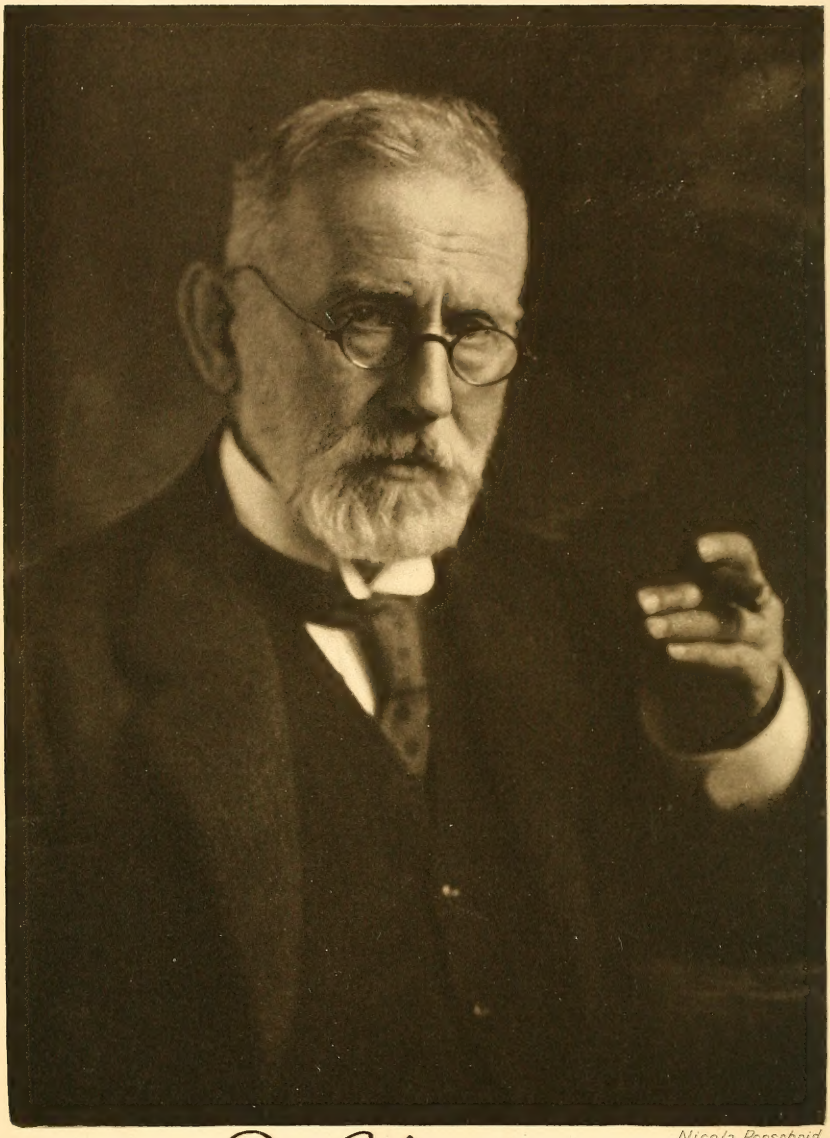
Library
National Institutes of Health
Bethesda 14, Maryland

167

# PAUL EHRLICH

## Eine Darstellung seines wissenschaftlichen Wirkens



Nicola Perscheid

P. Ehrlich

LIBRARY
HYGIENIC LABORATORY
WASHINGTON, D. C.
24 My '15

# PAUL EHRLICH

1854-1915

## Eine Darstellung seines wissenschaftlichen Wirkens

Von

**H. Apolant**, Frankfurt a. M.; **H. Aronson**, Berlin; **H. Bechhold**, Frankfurt a. M.; **J. Benario**, Frankfurt a. M.; **L. Benda**, Frankfurt a. M.; **A. Bertheim**, Frankfurt a. M.; **K. Bierbaum**, Frankfurt a. M.; **K. E. Boehncke**, Frankfurt a. M.; **V. Czerny**, Heidelberg; **E. v. Dungern**, Hamburg; **L. Edinger**, Frankfurt a. M.; **G. Embden**, Frankfurt a. M.; **U. Friedemann**, Berlin; **G. Gaffky**, Hannover; **R. Gonder**, Frankfurt a. M.; **S. Hata**, Tokio; **A. C. Hof**, Frankfurt a. M.; **M. Jacoby**, Berlin; **A. Lazarus**, Charlottenburg; **C. Levaditi**, Paris; **Th. Madsen**, Kopenhagen; **L. H. Marks**, Frankfurt a. M.; **E. Marx**, Frankfurt a. M.; **L. Michaelis**, Berlin; **J. Morgenroth**, Berlin; **P. Th. Müller**, Graz; **A. Neißer**, Breslau; **M. Neißer**, Frankfurt a. M.; **R. Otto**, Berlin; **H. Ritz**, Frankfurt a. M.; **H. Sachs**, Frankfurt a. M.; **G. Schöne**, Greifswald; **K. Shiga**, Tokio; **W. Waldeyer**, Berlin; **A. v. Wassermann**, Berlin; **A. v. Weinberg**, Frankfurt a. M.; **R. Willstätter**, Berlin

Festschrift zum 60. Geburtstage des Forschers
(14. März 1914)

**Mit 1 Bildnis**

Jena
Verlag von Gustav Fischer
1914

HISTORY
OF
SCIENCE
AND
MEDICINE

Alle Rechte vorbehalten.

Das vorliegende Buch soll einen Überblick über die Forschungen Ehrlichs gewähren. Es will weder Lehr- noch Handbuch sein. Diesem Charakter entsprechend stehen im Mittelpunkte der Darstellung die Veröffentlichungen Ehrlichs und seiner Mitarbeiter, und nur diese haben in dem einheitlich durchgeführten Literaturnachweise Berücksichtigung gefunden. Die Literaturzitate in den Anmerkungen des Textes enthalten den Ort der Publikation, nicht den Titel; die ihnen in eckigen Klammern [ ] beigefügten Zahlen verweisen auf die Nummer des bibliographischen Registers (Seite 629), in dem die vollständigen Angaben zu finden sind.

# Inhaltsverzeichnis.


Seite

A. **Biographische Einführung** (von Geh. Regierungsrat Dr. A. von Weinberg in Frankfurt a. M.) . . . . . 3

B. **Histologie und Biologie der Zellen und Gewebe** . . . . . 15

1. Einleitender Überblick (von Geh. Obermedizinalrat Prof. Dr. W. Waldeyer in Berlin) . . . . . 17
2. Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus (von Prof. Dr. L. Michaelis in Berlin) . . . . . 24
3. Farbenanalytische Studien (von Prof. Dr. L. Michaelis in Berlin) 40
4. Histologie und Klinik des Blutes (von Prof. Dr. A. Lazarus in Charlottenburg) . . . . . 58
5. Neurologie (von Prof. Dr. L. Edinger in Frankfurt a. M.) . . . . 76
6. Bakteriologie (von Prof. Dr. M. Neißer in Frankfurt a. M.) . . . 83
7. Protozoenstudien (von Dr. R. Gonder in Frankfurt a. M.) . . . 107
8. Botanik (von Dr. A. C. Hof in Frankfurt a. M.) . . . . . 124

C. **Immunitätsforschung** . . . . . 127

1. Einleitender Überblick (von Wirkl. Geh. Obermedizinalrat Prof. Dr. G. Gaffky in Hannover) . . . . . 129
2. Die Seitenkettentheorie (von Geh. Medizinalrat Prof. Dr. A. von Wassermann in Berlin) . . . . . 134
3. Methodik und quantitative Prinzipien bei der Behandlung der Immunitätsprobleme (von Prof. Dr. Th. Madsen in Kopenhagen) . . . . . 151
4. Zur experimentellen Technik (von Dr. L. H. Marks in Frankfurt a. M.) . . . . . 159
5. Rezeptorenspezifität (von Prof. Dr. E. Freiherr von Dungern in Hamburg) . . . . . 162
6. Konstitution der Toxine (von Dr. H. Aronson in Berlin) . . . . 166
7. Hämotoxine bakteriellen Ursprungs (von Prof. Dr. P. Th. Müller in Graz) . . . . . 191
8. Pflanzliche Toxine (von Dr. H. Ritz in Frankfurt a. M.) . . . . 200
9. Tierische Toxine (von Prof. Dr. H. Sachs in Frankfurt a. M.) . . 209
10. Antitoxinwirkung (von Oberstabsarzt a. D. Prof. Dr. E. Marx in Frankfurt a. M.) . . . . . 233
11. Cytophile Antikörper (von Prof. Dr. H. Sachs in Frankfurt a. M.) 245
12. Die Serumprüfung und ihre theoretischen Grundlagen (von Stabsarzt Prof. Dr. K. E. Boehncke in Frankfurt a. M. . . . . 292

Seite

13. Überempfindlichkeit — Anaphylaxie (von Prof. Dr. R. Otto in Berlin) . . . . . 332
14. Fermente und Antifermente (von Prof. Dr. U. Friedemann in Berlin) . . . . . 343
15. L'hérédité de l'état réfractaire acquis (von Prof. Dr. C. Levaditi in Paris) . . . . . 350

D. **Geschwulstforschung.** . . . . . 355

1. Einleitender Überblick (von Wirkl. Geheimen Rat Prof. Dr. V. Czerny, Exzellenz, in Heidelberg) . . . . . 357
2. Ergebnisse der experimentellen Geschwulstforschung — mit Ausschluß der athreptischen Immunität (von Prof. Dr. H. Apolant in Frankfurt a. M.). . . . . 361
3. Athreptische Immunität — die Bedeutung des Gedankens der Athrepsie für die Pathologie und Biologie des Wachstums, der Geschwülste und der Infektionskrankheiten (von Prof. Dr. G. Schöne in Greifswald) . . . . . 379

E. **Chemie und Biochemie** . . . . . 409

1. Einleitender Überblick (von Prof. Dr. R. Willstätter in Berlin) 411
2. Chemie — mit Ausschluß der Arsenverbindungen (von Dr. L. Benda in Frankfurt a. M.) . . . . . 417
3. Chemie der Arsenverbindungen (von Prof. Dr. A. Bertheim in Frankfurt a. M.) . . . . . 447
4. Konstitution, Distribution und Wirkung (von Prof. Dr. M. Jacoby in Berlin) . . . . . 477
5. Physiologische und pathologische Chemie (von Prof. Dr. G. Embden in Frankfurt a. M.) . . . . . 494
6. Desinfektion (von Prof. Dr. H. Bechhold in Frankfurt a. M.) . . 505

F. **Chemotherapie** . . . . . 513

1. Einleitender Überblick — Salvarsan und Syphilis (von Geh. Medizinalrat Prof. Dr. A. Neißer in Breslau) . . . . . 515
2. Chemotherapeutische Studien (von Prof. Dr. J. Morgenroth in Berlin). . . . . 541
3. Experimentelle Grundlagen der Salvarsanwirkung (von Prof. Dr. S. Hata und Prof. Dr. K. Shiga in Tokio) . . . . . 583
4. Die klinische Erprobung des Salvarsans (von Dr. J. Benario in Frankfurt a. M.) . . . . . 602
5. Salvarsan bei Tierkrankheiten (von Dr. K. Bierbaum in Frankfurt a. M.). . . . . 617

G. **Bibliographie.** (Zusammengestellt von Prof. H. Sachs in Frankfurt a. M.) 625

Namenregister . . . . . 658

Kurze alphabetische Inhaltsübersicht . . . . . 666

# A.

# Biographische Einführung.

# Biographische Einführung.

Von

**A. von Weinberg,**
Frankfurt a. M.

Die Erkenntnis des Zusammenhangs der Naturerscheinungen wird um so schwieriger, je mehr wir dem Problem des Lebens nahen, und der Forscher, der auf diesem Wege der Menge vorangeht, ist in Gefahr, die Fühlung mit ihr zu verlieren. Paul Ehrlich, der Genius, dem es vergönnt ist, mit dem inneren Auge den Mikrokosmos des Lebens zu erfassen, ist ein Mensch im besten Sinne geblieben. Ihn als Forscher und Mensch zu beschreiben, ist der Zweck dieses einleitenden Kapitels.

Schon Ehrlichs Großvater und Vater waren Männer von eigenartigem Charakter. In ihren Anschauungen der Zeit, in der sie lebten, voraus, fühlten sie sich vereinsamt in dem kleinen Orte Strehlen in Schlesien. Ehrlichs Mutter (geb. Weigert) war eine ungemein tüchtige Frau, deren Klugheit und praktischer Sinn die vollkommenste Ergänzung zu dem grübelnden Geiste des Vaters waren. Der am 14. März 1854 geborene Sohn Paul wurde, nachdem er die Elementarschule in Strehlen absolviert, in das Breslauer Gymnasium, das Magdaleneum, geschickt. Was dort an exakter Wissenschaft geboten wurde, war nicht gerade viel und Mathematik so ziemlich das einzige reale Fach; in diesem war denn auch der kleine Paul vorzüglich, daneben zog ihn nur der logische Aufbau der lateinischen Sprache an. Wegen der guten Kenntnisse in diesem Fache — die er nie vergessen hat — war ihm schon der Wegfall der mündlichen Prüfung im Abiturientenexamen in Aussicht gestellt, als seine „einseitige" Begabung ihm einen Streich spielte. Das Thema des Klausuraufsatzes lautete nämlich: „Das Leben ein Traum", und der Oberprimaner Ehrlich benutzte es, um auseinanderzusetzen, daß das Leben auf normaler Oxydation beruhe, daß auch die Gehirntätigkeit ein solcher Prozeß und der Traum eine

Art Oxydation, eine „Phosphoreszenz des Gehirns" sei. „Ungenügend" lautete selbstverständlich die Note für diese Leistung, und das mündliche Examen konnte nicht erlassen werden.

Das erste Semester des Universitätsstudiums blieb Ehrlich in Breslau, um die Elementarfächer der Naturwissenschaften kennen zu lernen, ohne ausgesprochene Neigung für ein bestimmtes Fach. Er ging dann im zweiten Jahr nach Straßburg, und als er dort Waldeyer kennen lernte, den großen Forscher und Lehrer, war es ihm klar, daß die Medizin in der Auffassung dieses Gelehrten für ihn das gegebene Fach sei. Die allgemeinen Probleme zogen ihn mehr an als das spezielle Studium, und als ihm eines Tages eine Arbeit von Heubel über Bleivergiftung in die Hände fiel, war sein ganzes Interesse in Anspruch genommen. Es war dort behauptet, daß die Gewebe derjenigen Organe, in denen sich bei Bleiintoxikationen dieses Metall findet, auch in totem Zustande Blei aus seinen Lösungen in gleicher Proportion in ihren Zellen abzuscheiden imstande sind. Der junge Student sah hier die ersten Anfänge einer selektiven Verankerungstheorie, und mit größtem Eifer wurden die Arbeiten wiederholt und mit Hilfe photographischer Verstärkungsmethoden ausgearbeitet. Aber die Ermittlung der quantitativen Verteilung des Bleies bot große Schwierigkeiten. Leichter mußte die Feststellung sein, wenn die fixierte Substanz gefärbt war, und so entstand der Gedanke, es einmal mit einem Farbstoff, dem Fuchsin, zu probieren. Der Versuch gelang, und nun richtete sich das ganze Denken des Studenten auf diese merkwürdige Erscheinung. Es folgten Jahre eifrigen Studiums in der begonnenen Richtung, wobei mancher Spezialzweig der Medizin zu kurz kam, und nicht ohne eine gewisse Beklemmung begann Ehrlich das Staatsexamen in Breslau im Jahre 1877. Der Ruf seiner Begabung und Originalität hatte sich aber schon in den Kreisen der Universität verbreitet, und der Examinator, Prof. Biermer, der bedeutende Kliniker, benutzte die Gelegenheit, um dem Kandidaten eine schwierige, noch ungelöste neurologische Arbeit zu geben. Dieser fand zwei mögliche Lösungen, schwankte aber und erzählte seine Zweifel eines Tages Prof. Berger, ohne zu wissen, daß Biermer und Berger gerade über diese Sache in wissenschaftlichem Streit waren. Prof. Berger, der die Sachlage durchschaute, gab dem Kandidaten den freundschaftlichen Rat, die eine, allerdings unwahrscheinlichere Lösung zu wählen, was denn auch geschah. Kurz darauf trifft Prof. Biermer den Kollegen Berger und teilt ihm hocherfreut mit, daß der für seinen Scharfsinn bekannte Studiosus Ehrlich sich ganz auf seine Seite gestellt und seine Lösung verteidigt habe.

Die Arbeiten, welche Ehrlich schon damals im Institut für Pathologie bei Cohnheim und bei Heidenhain gemacht hatte, angeregt durch den Verkehr mit Männern, wie Weigert (Ehrlichs Vetter), Welsh, dem Führer der amerikanischen Wissenschaft und Salomonsen, hatten seinen Ruf aber auch weiter getragen, und so wurde er schon 1878 als Oberarzt in die I. medizinische Klinik von Prof. Frerichs nach Berlin berufen. Die ehrenvolle Stellung brachte anfangs manche Unannehmlichkeiten. Alle die Miseren der alltäglichem Medizin stürmten auf den jungen „Oberarzt" ein, der ganz andere Dinge im Kopfe hatte. Zu seinem Glück hatte er einen ungemein tüchtigen und praktischen Unterarzt zur Seite, den jetzigen Generalstabsarzt der Marine Exzellenz Schmidt. Unausgesetzt verfolgte schon damals Ehrlich das Problem, die Beziehungen zwischen chemischer Konstitution, Verteilung und Wirkung aufzuklären, wobei ihm die in ihren Anfängen stehende Anilinfarbenindustrie zu Hilfe kam. Die Farbstoffe erschienen als das geeignete Mittel, um über die Verteilung bestimmter Stoffe im Organismus sinnfälligen Aufschluß zu erhalten und die Affinität der einzelnen Gewebe zu ihnen zu erkennen. Man kann die gesamte erste Periode von Ehrlichs wissenschaftlichem Wirken als die Epoche der farbenanalytischen Studien bezeichnen. Es genügt hierbei an die Errichtung des gewaltigen Lehrgebäudes der Histologie des Blutes zu erinnern, die mit der Entdeckung der Mastzellen als mikrochemisch charakterisierte Art der weißen Blutkörperchen beginnt. Die Unterscheidung der Zelltypen des Blutes nach ihren Beziehungen zu den verschiedenartigsten Farbstoffen, nach der Färbbarkeit ihrer Granulationen, die Entdeckung einer Fülle klinisch bedeutungsvoller Tatsachen bilden das Fundament, auf dem die gesamte Lehre von der Histologie des Blutes und von den Blutkrankheiten steht. Auf den verschiedenartigsten Gebieten versuchte Ehrlich durch das farbenanalytische Studium tiefer einzudringen, und überall begegnen wir Spuren seiner fruchtbringenden Tätigkeit. Als Beispiele seien die Entdeckung der Säurefestigkeit des Tuberkelbazillus durch eine besondere Färbemethode, die Diazoreaktion des Harns, der Nachweis der Methylenblaureaktion der lebenden Nervensubstanz genannt. In seiner Monographie, „Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus" (1885), erschien die Frucht der umfangreichen Studien, welche die Erkenntnis feinster Zellstrukturen und Zellfunktionen zum Ziele hatten, ein Buch, das der Biologie eine Fundstätte von Tatsachen, eine Quelle von Anregungen gegeben, und in dem Ehrlich eine neuartige Auffassung über Konstitution und Eigenschaften des Protoplasmas entwickelte

und den Grundstein zu seiner später so berühmt gewordenen Seitenkettentheorie legte.

Doch war noch ein weiter Weg zurückzulegen bis zu jener Klarheit der Erkenntnis, wie sie uns später in dem Nobelvortrag über die „Partialfunktionen der Zelle" entgegentritt. Ehrlich war unterdessen, 1884, Titularprofessor und, 1887, Dozent an der Berliner Universität geworden, doch mußte er die Arbeiten (1888) aus einem schwerwiegenden Grunde unterbrechen. Beim Arbeiten mit Tuberkelbazillen hatte er sich infiziert, und als er eines Tages, veranlaßt durch das Gefühl eines eigentümlichen Hustenreizes, den Auswurf untersuchte, fand er Tuberkelbazillen. Er mußte sofort in Begleitung seiner Gattin südliches Klima aufsuchen und blieb nahezu $1^1/_2$ Jahre auf Reisen in Ägypten und anderen Ländern. Es war zu der Zeit, als Robert Koch das Tuberkulin gefunden, und eine Behandlung mit dem neuen Mittel trug zur vollständigen Heilung bei. Die Arbeiten konnten jetzt wieder aufgenommen werden, doch mußte sich Ehrlich zunächst mit einem aus eigenen Mitteln eingerichteten primitiven Laboratorium in der Lützowstraße in Berlin begnügen, bis 1890 sich ihm in dem neuerbauten Kochschen Institut für Infektionskrankheiten eine befriedigende Arbeitsstätte bot. Ehrlich wurde zum außerordentlichen Professor an der Universität Berlin ernannt, und nun beginnt die Reihe jener fundamentalen Untersuchungen über Immunität und Antitoxine.

So scheinbar verschiedenartig die nun folgenden Arbeiten in Ehrlichs zweiter Epoche im Vergleich zu seinem bisherigen Schaffen in ihren Resultaten anmuten, so liegt ihnen doch auch jene gemeinsame Vorstellung zugrunde, die Ehrlich von Anfang an bei der wissenschaftlichen Arbeit geleitet hat, die einem umfassenden naturwissenschaftlichen Begreifen biologischer Geschehnisse entspringende Idee von den engen Beziehungen zwischen Konstitution, Verteilung und Wirkung. Zweifellos übten bei der Wahl des neuen Arbeitsgebietes Robert Kochs Entdeckungen der spezifischen Ätiologie der Infektionskrankheiten und seine erfolgreichen Bestrebungen, zu einer rationellen und spezifischen Therapie zu gelangen, einen mächtigen Einfluß auf den Forscher aus. Und als es sich mit immer größerer Deutlichkeit zeigte, welch wichtige Rolle giftige Stoffwechselprodukte und Leibessubstanzen der Infektionserreger bei den durch sie hervorgerufenen Krankheiten spielen, war es die logische Konsequenz eines glücklich optimistischen Festhaltens an seinen Ideen, daß Ehrlich das Prinzip der Verteilung und Wirkung auch auf die giftigen Eiweißstoffe ausdehnte. Es ist kein Zufall, daß er hierbei

an erster Stelle giftige Eiweißkörper höherer Pflanzen, das Ricin und Abrin, heranzog. Denn durch die Untersuchungen Koberts waren diese Stoffe damals im Gegensatz zu den Bakterienprodukten in hinreichender Reinheit und genügender Menge zugängig, so daß den Forderungen nach exakter quantitativer Analyse und breit angelegten Versuchen, welche Ehrlich stets für seine Arbeit als wesentlich galten, entsprochen werden konnte. So gelang es Ehrlich rasch, einmal die biologisch bedeutsame Tatsache festzustellen, daß eine Immunisierung auch gegenüber Stoffen nichtbakteriellen Ursprungs möglich ist, dann aber zu zeigen, daß die Immunität quantitativ faßbar und mathematisch-zahlenmäßig zu behandeln ist. Als es sich dann um die Heranziehung der von Behring entdeckten Diphtherieantitoxine zur Heilung der menschlichen Diphtherie handelte, zeigte sich der große Nutzen der an den pflanzlichen Giftstoffen in langjährigen Untersuchungen gewonnenen Erfahrungen. Zu einer Zeit, als das Diphtherieserum für die Einführung in die Praxis reif war, aber die Erfolge den Erwartungen wegen ungenügender Antitoxinkonzentration noch nicht entsprachen, war Ehrlich derjenige, welcher über ein Serum von genügend hoher antitoxischer Kraft verfügte. Ihm waren durch die gründlichen Vorarbeiten die Methoden bekannt, die zur Produktion eines möglichst hohen Antikörpergehalts führen, und seine zum Teil in Gemeinschaft mit Brieger und insbesondere mit Kossel und Wassermann ausgeführten Untersuchungen führten zu jenen Ergebnissen, die im wesentlichen auch heute noch als Grundlagen der Immunisierung, der Heilserumdarstellung und der Heilserumanwendung dienen. Die Immunitätssteigerung, der kurvenmäßige Verlauf der Immunität sind die wissenschaftlichen Grundbegriffe, auf denen sich die aktiven Immunisierungsformen und die durch Wright zu neuem Aufschwung gelangte Vaccinetherapie aufbaut. Aus der gleichen Zeitperiode verdienen die Studien über Vererbung der Immunität besonderer Erwähnung. Der berühmt gewordene „Ammenversuch“ lehrte die Vererbung der Antikörper durch die Milch bei der Säugung. Aus der Erkenntnis, daß Immunität und Antitoxinwirkung Erscheinungsformen streng quantitativer Art darstellen, ergab sich das dringende Bedürfnis, die Serumpräparate in rationeller Weise auf ihren Wirkungswert zu kontrollieren und den Ärzten quantitativ geprüftes Heilserum in die Hand zu geben. Diesem Zweck diente zunächst die Ehrlich unterstellte Kontrollstation am Kgl. Institut für Infektionskrankheiten in Berlin. Zum ersten Male hatten seine theoretischen Immunitäts-

studien einen bedeutsamen Einfluß auf eine praktisch ungemein wichtige Frage gewonnen.

Dieser Umstand wurde für Ehrlich von großer Bedeutung. Ministerialdirektor Friedrich Althoff, der sich durch weitausschauende Initiative um die Wissenschaft so hohe Verdienste erworben, hatte Gelegenheit, zu erkennen, welche Fülle potentiellen Besitzes der medizinischen Wissenschaft in Ehrlichs Forschergeist gegeben war. Althoff ist es zu danken, daß im Jahre 1896 Ehrlich ein eigenes Forschungsheim in dem neu gegründeten Institut für Serumprüfung und Serumforschung in Steglitz bei Berlin übergeben wurde. Ehrlich entsprach der Verpflichtung, die er übernommen hatte, durch die Ausarbeitung einer Methode der Wertbestimmung des Diphtherieserums, die, im Jahre 1897 in seiner berühmten Monographie veröffentlicht, heute in fast allen Kulturländern die Grundlage für die Kontrole des Diphtherieserums bildet.

Die Gewinnung eines Maßstabes war aber nur ermöglicht worden auf Grund detaillierter Studien über die Konstitution der Toxine und Antitoxine, der Erkenntnis der scharfen Differenzierung zwischen den beiden analysierbaren Toxinfunktionen, der Giftwirkung und dem Antitoxinbindungsvermögen. Die weitere Konsequenz dieser fundamentalen Entdeckung war die sich ergebende Auffassung der Antitoxine und aller anderen Antikörper als Organe der Verteilung, denen zu ihren Funktionen im Organismus lediglich die chemische Avidität als Werkzeug dient. So stellen sich die Antikörper als die Träger jener Atomgruppierungen dar, welche das Gift chemisch fesseln, es zur Wirkung bringen, aber es zugleich verhindern, an die giftgefährdeten Stellen heranzutreten. In der Seitenkettentheorie hat Ehrlich diesen Gedanken auf eine breite Grundlage gestellt und durch geistvolle Hinweise auf die Konstitution des Zellprotoplasmas, auf die physiologischen Vorgänge der Ernährung und Assimilation, die ihm in wesentlichen Grundzügen schon bei der Monographie „Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus“ vorschwebten, auch den kausalen Zusammenhang aufgedeckt. Wohl selten hat eine Theorie auf fast allen Gebieten der biologischen Naturwissenschaften einen derartigen Einfluß gewonnen, wie es bei der Seitenkettentheorie und dem darin enthaltenen wesentlichen Begriff des Rezeptors der Fall gewesen ist. Insbesondere hat die Immunitätsforschung während dreier Lustren, die seither verstrichen sind, durch diese Auffassung der Erscheinungen immer von neuem Anregung und Befruchtung erhalten, und wenn man vom Standpunkt der Seitenkettentheorie aus historisch

zurückblickt auf Ehrlichs Werk, so erscheint sie als eine Krönung des Gedankens, der ihn von Anfang an leitete. Denn die Antikörperlehre hatte den idealsten Fall kennen gelehrt, bei welchem die Konstitution des körperfremden Agens und der biochemischen Einheiten des Organismus in scharf definierter Weise Verteilung und Wirkung bestimmt. Die Folgerung, daß das distributive Moment hierbei zwar die Vorbedingung der Giftwirkung und des Giftschutzes darstellt, aber einen selbständigen Mechanismus bedeutet, der von der pharmakodynamischen oder toxischen Wirkung vollkommen unabhängig ist, ordnete zugleich das Problem der Antikörperimmunität einem allgemeinen Prinzip biologischer Gesetzmäßigkeit unter. Die antitoxischen und antibakteriellen Antikörper erscheinen nur als Spezialfälle jenes großen Naturgesetzes, das die Reaktionsfähigkeit des Organismus gegenüber art- und körperfremden Stoffen im allgemeinen beherrscht.

Die Arbeiten der nächsten Jahre stellen die logische Weiterführung der Seitenkettentheorie dar. Ihrer Ausdehnung und dem immer größer werdenden Umfang, welchen die amtliche Wertbemessung der Heilsera nahm, genügten aber die bescheidenen Räume des kleinen Steglitzer Instituts nicht mehr, und so entstand das nach Frankfurt a. M. verlegte Kgl. Institut für experimentelle Therapie, an dessen Gründung von seiten der Preußischen Staatsregierung Althoff, von seiten der Frankfurter Stadtverwaltung Adickes hervorragenden Anteil nahmen. Im Jahre 1899 übernahm Ehrlich, der inzwischen (1897) zum Geh. Medizinalrat ernannt worden war, die Leitung der neuen Forschungsstätte. Und nun beginnt die dritte Periode der Forschungen. Der Ausbau der bereits in Steglitz in Gemeinschaft mit Morgenroth begonnenen Studien über Hämolysine wurde auf breiter Basis fortgeführt, und die neuen grundlegenden Ergebnisse führten zu den Gesetzen über die Wirkung und Konstitution der gegen tierische und Bakterienzellen gerichteten Antikörper.

Auch hier erwies sich das durchgreifende, von Ehrlich erkannte Prinzip der spezifischen Bindung als der Schlüssel des Verständnisses. Die komplexe Konstitution, durch welche die zytolytischen Antikörper charakterisiert sind, führte dabei auf Grund einer Analyse der distributiven Kräfte, deren Methodik in den Bindungsversuchen besteht, zu einer räumlichen Trennung des distributiven und des die zellschädigende Wirkung bedingenden lytischen Prinzips. So entstand die Ambozeptortheorie, welche mit der Theorie der Seitenketten oder Rezeptoren in engem Zusammenhang steht. Sie ist der Ausdruck der Tatsache, daß die zellschädigenden Antikörper an und für sich nur distributiv wirken, d. h. sich in spezifischer Weise mit dem

korrespondierenden Zellsubstrat vereinigen, daß aber die Folge dieses Aktes der Distribution darin besteht, daß das gefesselte Substrat vermittels des als Ambozeptor aufzufassenden Antikörpers den fermentartig wirkenden Komplementen zugängig wird und dann ihrer auflösenden Wirkung unterliegt. Indem gleichzeitig die Berechtigung der von Ehrlich eingeführten pluralistischen Betrachtungsweise für die Rezeptorenkonstitution des Protoplasmas und für die aktiven Stoffe des Blutserums auf breiter Basis erhärtet werden konnte, ergaben sich eine Fülle von Konsequenzen und Anregungen für die Serodiagnostik und Serotherapie. Die experimentelle Analyse der Ambozeptorwirkung, zumal die Erkenntnis der Tatsache, daß das Antigen überhaupt nicht, der Ambozeptor nur in sehr lockeren Beziehungen zum Komplement steht, der Rezeptor-Ambozeptor-Komplex durch Aviditätssteigerung aber eine maximale antikomplementäre Kraft besitzt, bildete zugleich die Grundlage für die Serodiagnostik mittels Komplementbildung. War auch durch die Versuche Bordets und Gengous über den Antikörpernachweis auf diesem Gebiete vorgearbeitet, so ist doch die praktische Verwertbarkeit für die Differenzierung gelöster Eiweißstoffe zuerst unter Ehrlichs Führung von seinen Mitarbeitern M. Neißer und H. Sachs erkannt worden. Durch die hierauf fußenden Arbeiten Wassermanns fand dann das Prinzip seine bedeutungsvollste Anwendungsform in der Serodiagnostik der Syphilis.

Die Arbeiten erschienen zusammengefaßt 1904 als „Gesammelte Arbeiten zur Immunitätsforschung". Es fehlte nicht an äußeren Anerkennungen für diese Leistungen. 1903 erhielt Ehrlich die Große Goldene Medaille für Wissenschaft, und 1904 ernannte ihn die medizinische Fakultät von Göttingen zum ordentlichen Honorarprofessor.

Gleichzeitig war dabei eine außerordentlich wichtige Arbeit gefördert worden, die 1902 begonnenen Untersuchungen über maligne Geschwülste. Zur experimentellen Erforschung dieses Gebietes bot das Institut weder die nötigen Räume noch die erforderlichen Mittel. Zunächst gelang es durch die Opferwilligkeit hochherziger Spender materielle Hilfe für die umfassenden Versuche zu erhalten, so daß die Prinzipien des neuen Arbeitsgebietes festgelegt werden konnten. Als grundlegende Tatsachen fand Ehrlich die Virulenzsteigerung bei fortgesetzter Passage der Karzinomzelle von Tier zu Tier, sowie die Möglichkeit des Übergangs von Karzinom in Sarkom. Es ergab sich der neue Gedanke der Athrepsie als Ursache der Immunität. Auch hier kam das „Verteilungsprinzip" zur Anwendung, da das Leben der Geschwülste abhängt von

dem Grade der Avidität des Gewebes und der Tumorrezeptoren zu den der Lebenserhaltung dienenden Nährstoffen.

Unterdessen war 1906 neben dem Institut für experimentelle Therapie ein neues großes Gebäude entstanden, das Frau Franziska Speyer auf Anregung ihres Schwagers Prof. Ludwig Darmstädter zum Andenken an ihren verstorbenen Gatten gestiftet hatte, das Georg-Speyer-Haus. Hier konnte nun Ehrlich endlich das ausführen, was er schon lange geplant, den Aufbau einer systematischen Chemotherapie. Als erstes Objekt dieser Forschung dienten die durch Trypanosomen verursachten Krankheitserscheinungen. Ausgerüstet mit allen seinen Erfahrungen über Immunität, über Farbstoffwirkungen, und geleitet von den Verteilungsprinzipien, erreichte Ehrlich die vollständige Sterilisierung der mit Trypanosomen infizierten Tiere mit Hilfe des „Trypanrot". Es war dies für die praktische Therapie der Trypanosomenerkrankungen, wie auch für die Biologie der Trypanosomen von ausschlaggebender Bedeutung. Das Trypanrot war ein Polyazofarbstoff. Ehrlich schrieb seine Wirkung dem durch auxochrome Gruppen (OH, $NH_2$) aktivierten reduzierbaren Stickstoff der Azogruppe zu und ging dazu über, die Wirkung der dem Stickstoff verwandten Elemente, Phosphor, Arsen, Antimon, in ihren verschiedenen organischen Verbindungen zu studieren. Bei diesen Arbeiten glückte es ihm, die chemische Konstitution des sog. Atoxyls festzustellen, und damit eröffneten sich zahlreiche Möglichkeiten, das Arsen in ganz neuer, aktiver Form in den Organismus einzuführen. Vor allen Dingen gelang es, Körper, die eine der Azogruppe entsprechende aktive Arsenogruppe zugleich mit Hydroxyl- und Aminogruppen enthielten, die „Salvarsangruppe" herzustellen. Diese große Entdeckung verdankt Ehrlich nicht etwa einem Zufalle oder einer plötzlichen Eingebung, sie ist das Resultat der logischen Gedankenarbeit vieler Jahrzehnte, der Fähigkeit, aus vielen mühevollen Beobachtungen allgemeine Wahrheiten zu folgern.

In der von Ehrlich als Wissenschaft begründeten experimentellen Chemotherapie, welche man als den Inhalt der vierten Periode von Ehrlichs schöpferischer Tätigkeit bezeichnen kann, feiert die Erkenntnis des distributiven Prinzips ihre größten Triumphe. Wenn auch gerade in diesem Sinne die Antikörperwirkung insofern die rationellste Therapie darstellt, als die Antikörper, wie Ehrlich es ausdrückte, nur den Parasiten gleichsam wie die Zauberkugeln des Freischützen treffen, so hat sich doch herausgestellt, daß dieses therapeutische Prinzip bei manchen Infektionskrankheiten erheblichen Schwierigkeiten

begegnet, bei anderen, wie bei den Protozoenerkrankungen vorläufig überhaupt kaum anwendbar ist. Das Werk der Natur aber in der chemischen Retorte nachzuahmen, „zielen lernen durch chemische Variation", das war die schwierige Aufgabe, welche sich Ehrlich nunmehr stellte, und deren unermüdlichen Bearbeitung die Heilkunst das Salvarsan verdankte. Die Vorstellung aber, „corpora non agunt, nisi fixata", die Ehrlich bei seinen chemotherapeutischen Arbeiten leitete, ist einem Magneten vergleichbar, der das Denken dieses wissenschaftlichen Lebens mit eiserner Energie anzog.

Ehrlich hat die Gedankengänge, die ihn leiteten, in vielen Vorträgen, auch im Auslande (in der Croonian Lecture, in den Harben Lectures in London, der Herter Lecture in Baltimore usw.) einem großen Zuhörerkreise mitgeteilt und seine chemotherapeutischen Ideen zusammenfassend vor der Berliner medizinischen Gesellschaft, der Deutschen Chemischen Gesellschaft und besonders in jenem denkwürdigen Vortrag dargelegt, den er 1908 in Stockholm hielt, als ihm der Nobelpreis verliehen wurde.

Es wäre für einen einzelnen unmöglich gewesen, diese so vielseitigen Aufgaben zu lösen, hätte nicht Ehrlich das Glück gehabt, daß die weitblickenden Leiter der preußischen Unterrichtsverwaltung Studt und Trott zu Solz seine Tätigkeit stets in jeder Weise förderten, und daß er in Ministerialdirektor Friedrich Schmidt, ebenso wie früher in Althoff, einen Mann fand, der seinen wissenschaftlichen Arbeiten die Wege ebnen half.

1907 war Ehrlich zum Geh. Obermedizinalrat, 1911 zum Wirklichen Geheimen Rat mit dem Prädikat Excellenz ernannt worden. Mit zahllosen Ehrungen aller Art überhäuft, bleibt er gleichwohl stets derselbe, der Steuermann, der nur das eine Bestreben kennt, das Schiff der Erkenntnis dem Hafen der Wahrheit zuzuführen.

Aber man würde sich ein falsches Bild machen, wollte man in Ehrlich nur den kühlen Forschergeist sehen. Er ist ein Mann mit warmem Herzen, dem das naive Dankschreiben eines Geheilten viel mehr Freude macht als lange Lobesadressen. Den heiteren Geist, der ihn erfüllt, verdankt er nicht zum wenigsten seinem glücklichen Familienleben. 1883, in der Zeit, als er Oberarzt in Berlin war, hatte er bei einer Reise in das heimatliche Schlesien die treue Gefährtin seines Lebens, Hedwig Pinkus, kennen gelernt und in ihr die Frau gefunden, deren Geist und Wesen mit ihm harmonierte. Er hatte sich auch hier nicht geirrt. Die Gattin hielt ihn aufrecht, wenn mitunter dem rastlosen Geiste der überanstrengte Körper den Dienst versagen wollte. Die gemeinsame Aufgabe der Erziehung zweier Töchter, Stefanie (Frau

Dr. Schwerin) und Marianne (Frau Prof. Landau), bildete ein Band des häuslichen Glückes.

Wer den lebhaften Mann mit den durchdringenden Augen einmal gesehen und kennen gelernt, wird ihn nicht mehr vergessen. Auch im gewöhnlichen Gespräche nimmt bei ihm jeder Gedanke körperliche Gestalt an, und mit großen Bleistiftstrichen — wenn es nicht anders geht, auf Tischtuch oder Zimmertür — sucht er die Beziehungen der Dinge klarzumachen. Gleich groß als Biologe im weitesten Sinne und als Chemiker scheint es dann oft, als ob er, ähnlich wie der Sagenheld die Vogelstimme, die Geheimnisse der Moleküle zu erlauschen vermöge. Unerschöpflich in der Stellung neuer Probleme, verliert er doch nie den mathematisch-exakten Boden, und nur wer ihn ganz kennt, kann die Worte verstehen, die er seinen „Beiträgen zur experimentellen Pathologie“ (1909) vorausgeschickt hat:

> „Wenn es mir möglich war, wenigstens bis in die Anfänge der Erkenntnis der Protoplasmakonstitution als der erforderlichen Basis weiterer Bearbeitung etwas weiter vorzudringen, so ist damit eigentlich nur ein Programm zur Ausführung gekommen, das schon das Genie von Goethe vorausgeahnt hat, wenn er sagt:
>
> > „Wäre die Natur in ihren leblosen Anfängen nicht so gründlich stereometrisch, wie wollte sie zuletzt zu unberechenbarem und unermeßlichem Leben gelangen.“ “

B.

# Histologie und Biologie der Zellen und Gewebe.

1.

# Einleitender Uberblick.

Von

**W. Waldeyer,**

Berlin.

Gern habe ich es übernommen, meinem Freunde Paul Ehrlich mit einem kleinen Beitrage für die zu seinem 60. Geburtstage bestimmte Glückwunsch- und Festschrift eine Freude zu machen. Einleitende Worte zu einer Besprechung von Ehrlichs biologischen Arbeiten soll ich geben; wie könnte ich besser damit beginnen, als wenn ich erzähle, wie der jetzt auf der Höhe wissenschaftlicher Tätigkeit und Wertschätzung stehende Gelehrte selbst seine Studien eingeleitet hat?!

Paul Ehrlich kam in seinem zweiten Semester als blutjunger Student — er hat sehr früh an Jahren das Gymnasium absolviert — an die eben neu gegründete Universität Straßburg. War es der Reiz, den die verjüngte Universität in den eben wiedergewonnenen Reichslanden ausübte, war es der Umstand, daß ich aus dem schlesischen Heimatslande Ehrlichs, von Breslau, nach Straßburg gekommen war, kurz ich fand Ehrlich dort unter meinen Schülern und nahm ihn auch unter die jungen Freunde meines Hauses auf. Der junge Student fiel mir bald durch seinen Fleiß im Besuch der Vorlesungen und insbesondere beim mikroskopischen Übungskursus auf. Wenn die meisten anderen Studierenden sich begnügten an den offiziellen Kursstunden teilzunehmen, so sah ich Ehrlich auch außer dieser Zeit eifrig und oft an seinem Tische arbeiten. Ich kam dann eines schönen Tages an den Tisch und fand diesen in allen Regenbogenfarben prangen. „Nun, was machen Sie denn da?“ fragte ich meinen Ehrlich. „Ja,“ sagte er, „ich probiere mit den verschiedenen Farben!“ Ich ließ mir einige Präparate zeigen, fand sie besser, als es den meisten übrigen Kurs-

teilnehmern gelang solche anzufertigen, und auch manche neue, zu deren Anfertigung der junge Student, nachdem er kaum mit den mikroskopischen Übungen begonnen hatte, aus eigener Überlegung gekommen war. Mir fiel das Wort ein: „Probieren geht über Studieren" und ich sagte zu Ehrlich: „Na, dann probieren Sie nur weiter!"

Das hat nun der Studiosus Ehrlich, dann der Assistent, der Privatdozent, der Professor, der Institutsleiter und der Wirkliche Geheimrat „ehrlich und redlich" getan und tut es bis auf den heutigen Tag und, wünschen wir es ihm, noch recht, recht lange, usque ad dies Catonis! Denn eigene schöpferische Arbeit ist das Merkzeichen von Ehrlichs Leben und seine größte Lebensfreude, seiner echten Gelehrtennatur entsprechend.

Probiert hat Ehrlich aber nicht ins Blinde hinein in der Hoffnung, ein oder das andere Mal ein gutes Korn zu finden, nein, er probiert mit mathematisch strenger Überlegung, planvoll und maßvoll. Das sehen wir aus allen biologischen Arbeiten des großen Forschers.

Bedeutende Fortschritte in den biologischen Wissenschaften sind zum großen Teile bedingt — vielleicht darf man sogar sagen zum größten Teile — durch Fortschritte im Gebiete der exakten Wissenschaften, die mit Zahl, Maß und Gewicht operieren, also vornehmlich durch Fortschritte im Gebiete der Mathematik, Physik und Chemie. Unter diesen drei Schwesterwissenschaften nimmt für die intimeren Vorgänge im Reiche der Lebewesen die Chemie die erste Stelle ein. Das hat Meister Ehrlich schon bald nach Beginn seiner Studien klar erkannt und hier setzt seine Forscherarbeit ein.

Mit den Kenntnissen eines Chemikers vom Fach ausgerüstet und physikalisch wie mathematisch gut vorgebildet, begann er schon frühzeitig seine farbenanalytischen Studien, die ihn zu so wichtigen Ergebnissen führten. Gefärbt hatte man die Gewebselemente schon lange, seit J. v. Gerlach die Karminfärbung einführte. Aber man hatte dabei rein morphologische Ziele im Auge, hier und da fiel freilich ein biochemischer Brocken ab. Durch das zielbewußte Vorgehen Ehrlichs ist aber die farbenanalytische Untersuchung zum Range einer exakten wissenschaftlichen Methode erhoben worden. Das wichtigste von Ehrlich hierbei vollkommen zielbewußt eroberte Feld ist die Vitalfärbung. Man kann deren Bedeutung kaum hoch genug anschlagen. Unser Forscher selbst und zahlreiche Schüler arbeiten unentwegt daran, diese Methode zu erweitern und zu vervollkommnen. Unter vielen möchte ich nur an die letzte in den Abhandlungen der Königl. Preuß. Akademie der Wissenschaften veröffentlichte Arbeit des leider so früh — kurz nach Veröffentlichung dieser Arbeit — verstorbenen

Goldmann, eines Schülers Ehrlichs, über die Vitalfärbung des cerebrospinalen Nervensystems erinnern, ferner an die erst jüngst (Deutsche med. Wochenschr., Nr. 34, 21. August 1913) erschienene Arbeit W. v. Möllendorffs, „Über den Transport subkutan injizierter Farbstofflösungen durch den Darmkanal".

Ein anderes von Ehrlich erdachtes Verfahren, welches eine große Bedeutung in der histologischen Technik erlangt hat und mit der färberischen Analyse eng verknüpft ist, ist das Trockenverfahren. Mit Hilfe dieses Verfahrens ist die Histologie des Blutes, die weicher, pulpöser Gewebe, die der parasitären pflanzlichen und tierischen Gebilde, zahlreicher pathologischer Produkte wesentlich gefördert, ja, man kann sagen, neugestaltet worden. Wie ich erwähnte, fährt Ehrlich stetig in der weiteren Ausbildung der von ihm eingeführten Untersuchungsmethoden fort. Es sei hier auf das jüngst auf seine Anregung durch Szécsi als Fixationsmittel versuchte Lucidol hingewiesen: „Lucidol, ein neues Fixiermittel", Deutsche med. Wochenschr., Nr. 33, 14. August 1913. Der damit betretene Weg ist wichtig, weil das Lucidol nicht wasserlöslich ist; wir schalten also bei dieser Fixation die Wasserwirkung aus. Die von Szécsi mitgeteilten Ergebnisse fordern entschieden zu weiterer Verfolgung dieser und anderer ähnlicher Fixiermittel auf.

Es kann in dieser Einleitung unmöglich auf alle die neuen Untersuchungsverfahren und Untersuchungsmittel eingegangen werden, die wir Ehrlich verdanken. Ich will nur das eine noch besonders hervorheben, daß wir von Ehrlich stets genau die ratio erfahren, weshalb er dieses oder jenes Mittel oder Verfahren in Anwendung bringt, und wie es wirkt; das alles wird bis ins einzelste verfolgt und dargelegt. Ich verweise nur auf die Veröffentlichung über das Methylenblauverfahren.

Die Einführung genau in ihren Wirkungen kontrollierbarer Untersuchungsmethoden und Technizismen ist etwas für die Förderung der Wissenschaften, namentlich der biologischen, ungemein Wichtiges. Ja, man kann wohl sagen, daß die Fortschritte unserer Erkenntnis zum größten Teile von der Erfindung oder Entdeckung neuer Untersuchungsmethoden und Untersuchungsmittel abhängig sind. Was haben der beschreibenden Anatomie die Erfindung der Injektion der Blutgefäße mit erstarrenden Massen durch Swammerdam, was die neuen Injektionsverfahren der Lymphgefäße, die Gerota erdacht hat, was die Einführung der Gefrierschnittstechnik für Fortschritte gebracht, was liefern die Färbemethoden, das Mikrotom, die Fixiertechnik, die Photographie, die Röntgentechnik an neuen Erkenntnissen! Mit Ehrlichs Forschungstechnik beginnt nun etwas Neues, die chemisch-biologische Gewebs-

analyse, von der wir uns zurzeit noch völlig unübersehbare Förderungen unseres Wissens versprechen dürfen.

Ehrlich hat nun aber nicht nur neue Untersuchungsverfahren aufgedeckt, sondern er hat auch mit ihnen zu arbeiten gewußt und eine Menge neuer fundamental wichtiger Tatsachen gefunden. Die Vitalfärbung mit Methylenblau hat in seinen Händen eine ansehnliche Reihe neuer Tatsachen im Gebiete der Nervenendigungen und der feineren Anatomie der Ganglienzellen eruiert, die vielfach mit den Funden, die uns das Golgische Verfahren und dessen weitere Ausgestaltungen durch Ramón y Cajal und Bielschowski, so wie das Verfahren Apathy-Bethes lehren, übereinstimmen und damit diesen Funden eine wichtige Stütze geben. Besonders müssen aber an dieser Stelle die wichtigen Entdeckungen auf dem Gebiete der zelligen Elemente des Blutes und der Lymphe genannt werden, deren genaue Kenntnis erst mit Ehrlichs Untersuchungen beginnt. Die heutige Gestaltung der physiologischen und klinischen Hämatologie ist erst aus diesen Untersuchungen entwickelt worden. Nicht minder wichtig sind Ehrlichs Methoden für die Bakteriologie geworden; er selbst hat eine Reihe wichtiger Funde mit seinen Verfahrungsweisen gemacht. Ich muß es der Besprechung der einzelnen Abhandlungen überlassen dies genauer festzustellen.

Von besonderer Bedeutung sind die Feststellungen Ehrlichs im Gebiete der Lehre von den in den Zellen vorkommenden Granula. Er hat auf diesem Gebiete erst Ordnung geschaffen, indem er die besonderen tinktoriellen Eigenschaften der Granula kennen lehrte, zuerst in seßhaften Bindegewebszellen (Mastzellen), dann in Blutzellen (neutrophile, eosinophile Leukocyten). Seine Entdeckung der Mastzellen gab weiterhin Anstoß zu einer wichtigen, auf tinktoriellen Eigenschaften fußenden Einteilung der Bindegewebszellen. Ich hatte die von v. Recklinghausen und J. Cohnheim bereits gesehenen, granulierten Bindegewebszellen als eine besondere Klasse derselben unter dem Namen „Plasmazellen" hervorgehoben. Ehrlichs neugefundene Mastzellen gehörten hierher und bildeten sogar den größten Anteil derselben. Aber — wie eine von mir mit P. G. Unna ausgeführte (nicht publizierte) Untersuchung ergab — gehörten in meine frühere Plasmazellengruppe noch manche andersartige Gewebszellen. Da diese Gruppe der vortinktoriellen Zeit nach Kenntnisnahme der gut definierten Mast zellen ihre Bedeutung verloren hatte, stimmte ich P. G. Unna bei, welcher den überflüssig gewordenen Terminus „Plasmazellen" auf eine andere, bis dahin unbekannte Gruppe von Bindegewebszellen übertrug, die besonders reich an dem von ihm entdeckten Granoplasma ist und

in der Pathologie eine noch größere Bedeutung gewonnen hat als in der normalen Histologie. Die Mastzellen und Plasmazellen, obwohl morphologisch, chemisch und tinktoriell grundverschieden, haben in biologischer Beziehung neuerdings wieder eine ähnliche Sonderstellung unter den Bindegewebszellen gewonnen, da beide nach Unna hervorragende Sauerstofforte des Bindegewebes sind. Wir kennen noch eine Reihe anderer Zellkörnelungen, deren Bedeutung weniger klar ist, so besonders die Altmannschen Granula. Ehrlich ist aber vollkommen im Recht, wenn er sich Altmanns Veröffentlichungen gegenüber den ersten entscheidenden Schritt auf diesem Forschungsgebiete vindiziert. (Vgl. hierzu: „Farbenanalytische Untersuchungen zur Histologie und Klinik des Blutes." Berlin, Hirschwald, 1891).

Nehmen wir irgendeine Veröffentlichung Ehrlichs zur Hand, so fesselt uns die klare, von Punkt zu Punkt sich in bestimmter Bahn dem vorgesteckten Ziele zu entwickelnde Darstellung; es ist ein Vergnügen und gewährt hohe Befriedigung, eine Schrift aus Ehrlichs Feder zu lesen. Klar und objektiv werden die Erscheinungen und Tatsachen beschrieben; es werden die Erklärungen gegeben und in fast mathematischer Deduktion unter Abweisung möglicher Einwände sichergestellt, soweit das nach dem tatsächlich Vorliegenden möglich ist. Ich verweise z. B., um einiges Bestimmte anzuführen, auf die Schriften: „Beiträge zur Theorie der Bazillenfärbung" (Charité-Annalen, Bd. XI, 1886), „Über die Methylenblaureaktion der lebenden Nervensubstanz" (Deutsche med. Wochenschr. No. 4, 1886) oder auf die Arbeit: „Über provozierte Fluoreszenzerscheinungen am Auge" (Deutsche med. Wochenschr. No. 2/4, 1882). Aus der Abhandlung: „Über die Methylenblaureaktion der lebenden Nervensubstanz" möchte ich zum Beweise des Gesagten, wie bestimmt Ehrlich in der Feststellung seiner Ziele und Aufgaben ist, folgendes wörtlich anführen:

„Die vielfache Verwendung, welche die Pigmente in der Histologie und den benachbarten Fächern gefunden haben, ist Ihnen allen bekannt, und darf unbestritten behauptet werden, daß keine andere Methode in gleichem Maße zu dem fast vollendeten Ausbau der modernen Gewebelehre beigetragen habe. Dennoch läßt sich nicht verkennen, daß dieser Weg, derjenige der Färbung des Toten oder Ertöteten uns nur rein anatomische Aufschlüsse über die Struktur und Architektonik der Gewebe geben kann, uns aber in betreff der Eigenschaften der lebenden Zellen, die den Biologen am meisten interessieren, vollkommen im Stiche läßt. Will man diese Funktionen kennen lernen, so muß man die normalen Gewebe mitten auf der Höhe ihrer Funktion tingieren, d. h. den Färbungsakt in den

Organismus selbst verlegen.*) Es ergibt sich hieraus die Notwendigkeit der vitalen Farbzufuhrung, und glaube ich, gestutzt auf langjahrige Erfahrungen, es aussprechen zu mussen, daß die schwierigen bedeutungsvollen Fragen der Zellleben, die jeder anderen Untersuchungsweise trotzen, nur auf diesem Wege einer befriedigenden Losung entgegensehen."

Man kann diesen Worten wohl zustimmen, wenn man bedenkt, welcher großen Ausbildung die Vitalfärbung noch fähig ist.

Sehr sorgfaltig ist Ehrlich in der Anfuhrung der Literatur; er wird nicht leicht jemanden übergangen haben, der in denselben Gebieten gearbeitet hat, wie er, und zu gleichen oder doch erwahnenswerten Ergebnissen gekommen ist. In der Polemik ist Ehrlich maßvoll und, wenn es gilt, entschieden Front zu machen, doch stets sachlich.

Unter den Arbeiten Ehrlichs, welche die Biologie betreffen, ragt insbesondere noch eine hervor, die auch wohl in diesem einleitenden Kapitel eigens angefuhrt werden muß: „Das Sauerstoffbedurfnis des Organismus" (Berlin, Hirschwald, 1885).

Nur einem Forscher, der so tief eindringende Studien uber die chemische Natur der Farben gemacht hatte wie Ehrlich, war es moglich, die durch Reduktion und Oxydation erzeugten Veranderungen der Farben zu einem planvollen Studium der reduzierenden und oxydierenden Eigenschaften der tierischen Gewebe zu verwerten. Für alle ähnlichen biologischen Untersuchungen wird dieses Buch von Ehrlich stets das Fundament und eine Quelle wertvoller Einzeltatsachen bilden. Während Pflüger vor ihm die in den Gewebezellen sich vollziehende Oxydation vor allem betont hatte, konnte Ehrlich zeigen, daß in den Geweben unausgesetzt energische Reduktionsprozesse vor sich gehen. Wenn diesem grundlegenden Werke noch etwas fehlte, so war es der Übergang von der makroskopischen Betrachtung der Sauerstoffbewegung in den Organen zur mikroskopischen in den einzelnen Zellen. Ehrlich hat aber, nachdem sein Werk ein Vierteljahrhundert ohne Nachfolge geblieben war, letzthin die Genugtuung gehabt, daß es durch die Unna'sche Lehre von den Sauerstofforten bis in die Zellelemente hinein experimentell fortgefuhrt und in vielen wesentlichen Beziehungen bestatigt wurde. Nach Unna reduziert allerdings die formgebende Grundlage des Protoplasmas (Spongioplasma) in hohem Grade, wie Ehrlich es nachgewiesen hat; es finden sich aber in den Geweben auch Ansammlungen saurer Eiweißsubstanzen, welche Sauerstoff zu

*) Der Sperrdruck ist aus dem Original übernommen.

speichern befähigt sind (Sauerstofforte), so in den Kernen und den Ehrlichschen Mastzellen, die mithin Orte mit freiem Sauerstoff im Pflügerschen Sinne darstellen.

Ehrlichs biologische Untersuchungen greifen naturgemäß auch in das Gebiet der Pathologie über; vor allem ist es die Hämatopathologie, für welche diese Untersuchungen bahnbrechend geworden sind. Insbesondere sind es die leukämischen und anämischen Erkrankungsformen, die hier in Frage kommen. Es muß anderen Abschnitten dieser Festschrift vorbehalten bleiben, dies näher zu würdigen; hier sei es aber auch erwähnt, um die ungemeine Wichtigkeit hervorzuheben, welche diese mit so großer Sorgfalt und Genauigkeit ausgeführten Untersuchungen zu beanspruchen haben.

Kann man — und davon muß hier noch ein Wort gesagt werden — Ehrlich als Schüler irgendeines Lehrers bezeichnen? Ich glaube, man kann dies nicht in des Wortes voller Bedeutung. Ehrlich ist eine durchaus schöpferische Natur, die ihre eigenen Wege sich bahnt in vollkommen origineller Weise, die Vielen die Wege weist, selbst aber keinen Führer nötig hat. Ein „Glück auf!" diesem Pionier für viele weitere lichte Wege!

2.

# Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus.

Von

**L. Michaelis,**
Berlin.

Es ist eine ungemein schwierige Aufgabe, einem Werke, wie es „Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus" von Paul Ehrlich[1]) ist, nach allen Richtungen gerecht zu werden. Schon die Verteilung dieser Denkschrift an so viele Mitarbeiter ist ein Zeichen dafür, daß es keinen einzelnen Forscher gibt, der allein imstande wäre, das Lebenswerk Paul Ehrlichs zu würdigen. Das „Sauerstoffbedürfnis" ist aber gerade dasjenige Werk, bei dem die von Ehrlich beherrschten Disziplinen fast alle gleichzeitig auftreten. Es ist gleichsam eine intuitiv erfaßte Disposition für sein späteres Lebenswerk, eine Art wissenschaftlichen Gesamtbekenntnisses. Die methodische und die gedankliche Eigenart Ehrlichs tritt in diesem Werke zum erstenmal und gleichzeitig fast vollständig, ich möchte sagen, in konzentrierter Form auf; **methodisch:** das Aufgreifen der Fortschritte der chemischen Forschung für die Biologie, insbesondere die Heranziehung der Chemie der Farbstoffe, das Bestreben, den Chemismus des lebenden Organismus durch seine Reaktionsfähigkeit gegen chemische Reagentien zu studieren, derart, daß das Leben der Zellen dabei erhalten bleibt, so daß wirklich chemische Reaktionen der lebenden Zelle zur Beobachtung gelangen; und gedanklich: ein System, welches wir mit dem Schlagwort der Seitenkettentheorie in einer heute jedem verständlichen Weise kennzeichnen können. Alles das tritt uns zum erstenmal in dem „Sauerstoffbedürfnis" entgegen. Zwar beschäftigte sich Ehrlich in seinen früheren Arbeiten auch schon aufs intensivste und erfolgreichste mit seinen Lieblingen, den Farbstoffen, aber er ließ sie

[1]) Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus. Berlin (Hirschwald) **1885** [*30*].

bis dahin auf die abgetötete Zelle wirken. Hier wird der Farbstoff zum erstenmal ein vitales Reagens. Die Seitenkettentheorie erscheint ganz neu, fertig durchdacht, entnommen den jüngsten Errungenschaften der Chemie, und zwar im besonderen wieder der Farbstoffchemie, als eine Arbeitshypothese, die Ehrlich nicht mehr verlassen und auf allen seinen wissenschaftlichen Wegen treu begleitet und gefördert hat. Wer den Entwicklungsgang der Ehrlichschen Forschung nicht verfolgt hat und seinen Arbeiten erst gefolgt ist, seitdem sie die größten Probleme der praktischen Medizin erreicht hatten, dem scheint wohl die sog. „Seitenkettentheorie" erst für die Immunitätsforschung ad hoc geschaffen. Eine solche Vorstellung wäre ganz falsch, sie würde den inneren Zusammenhang der zweiten Forschungsperiode mit der ersten völlig verkennen: die Seitenkettentheorie ist fix und fertig in dem „Sauerstoffbedürfnis" niedergelegt, zu einer Zeit, wo es eine Immunitätsforschung noch lange nicht gab. Entnommen aber ist die Seitenkettentheorie der Farbstoffchemie, die sich wie ein Faden durch alle Arbeiten Ehrlichs zieht: seine ersten Arbeiten bestanden in der Entdeckung der spezifischen histologischen Farbstoffaffinitäten, es folgte in dem Sauerstoffbedürfnis die erste vitale Anwendung der Farbstoffe, die zur vitalen Färbung überleitet. Die nächste Periode, die Immunitätsforschung, ist ein dauerndes und erfolgreiches Bestreben, die an den Farbstoffen gesammelten Erfahrungen auf den Chemismus der Immunreaktionen anzuwenden; dann waren es wieder Farbstoffe, an denen er die ersten chemotherapeutischen Studien an Trypanosomen machte, und schließlich ist das Salvarsan eine Analogie der Azofarbstoffe und selbst ein Farbstoff. So erscheint das „Sauerstoffbedürfnis", wenn man es heute liest, als eine retrospektive Darlegung der ganzen Ehrlichschen Arbeits- und Denkweise.

Das Sauerstoffbedürfnis ist daher so recht ein Werk, von dem es sich lohnte, es neu herauszugeben und einer Sammlung der klassischen Arbeiten aus der Medizin einzureihen. Freilich ist es nicht eine klassische Arbeit in dem Sinn, daß seine Resultate ein in kurzen Worten ausdrückbares, bleibendes Vermächtnis der Wissenschaft wären; es bedeutet vielmehr den Beginn einer neuen Forschungsrichtung, die Aufstellung eines neuen Programms; nicht das vollendete Werk, so bedeutend es ist, ist das Denkwürdigste an diesem kleinen Buch, sondern seine Tendenz.

Das Problem, das sich Ehrlich in diesem Werke stellt, ist, die Sauerstoffavidität und den Grad der Sauerstoffsättigung des lebenden Protoplasmas zu bestimmen. Die Methode, die er dazu wählte, ist folgende: er bringt die lebende Zelle in Berührung mit Substanzen, welche in reversibler Weise reduktionsfähig und wieder oxydationsfähig sind; er wählt dazu Substanzen, deren Reduktionsvermögen bekannt ist; er wählt Sub-

stanzen mit verschieden starkem Reduktionsvermögen und bestimmt, welche dieser Substanzen von der Zelle reduziert werden und welche nicht. Als reduktionsfähige Substanzen wählt er Farbstoffe, deren Reduktion durch die Entfärbung erkannt werden kann, und deren Reoxydation (Verküpung) wieder zu dem ursprünglichen Farbstoff führt.

Diese Methode verdient nach zwei Richtungen hin eine ungeheuere Bewunderung. Zunächst einmal die souveräne Beherrschung des dem Physiologen bis dahin und auch meist noch heute gänzlich fremden Gebietes der organischen Farbstoffe, und die planvoll durchdachte Auswahl der geeigneten Farbstoffe! Zweitens aber ist die theoretische Grundlage der Methode eine Idee, die ihrer Zeit weit voraus war: die Messung chemischer Kräfte vermittels der Einleitung reversibler Prozesse.

Ehrlich bemüht sich, das Maß der „chemischen Affinität" zahlenmäßig zu definieren. Hat er dieses Bestreben auch noch nicht durchgeführt, so hatte er doch die Grundlagen geschaffen, um diese Zahlen jederzeit zu eruieren. Er begnügt sich vorläufig etwa zu sagen: die Reduktionskraft einer Zellart ist so groß, daß sie Indophenol reduziert, aber Alizarinblau nicht. Und da sich die chemische Affinität der Oxydation von reduziertem Indophenolweiß und von reduziertem Alizarinweiß messen läßt, so gewinnt man eine gewisse Strecke, innerhalb welcher die Sauerstoffaffinität dieser Zellart liegen muß.

Freilich stützt sich Ehrlich in der Definition der Affinitätsgröße noch auf das Berthelotsche Prinzip und betrachtet die bei der Vereinigung von Indophenolweiß mit Sauerstoff entwickelte Wärmemenge als das Maß für die chemische Affinität dieser Reaktion. Streng genommen ist diese Anschauung nicht mehr genau zutreffend, was man allerdings erst später durch die Untersuchungen von van 't Hoff erkannt hat. Das Maß einer chemischen Affinität ist nicht die entwickelte Wärmemenge, sondern die maximale Arbeit, welche gewonnen werden kann, wenn in einem Reaktionsgemisch, in dem alle an der Reaktion beteiligten chemischen Körper in der Konzentration von 1 g-Mol pro Liter vorhanden sind, ein Mol-Äquivalent der Stoffe isotherm und reversibel umgesetzt wird. Jedoch wird durch diese neue Definition der Affinitätsgröße an den Tatsachen nur Unbedeutendes geändert.

Die beiden wichtigsten, graduell verschiedensten, von Ehrlich verwendeten Farbstoffe werden in der Reihenfolge geordnet, daß Alizarinblau ziemlich schwer reduzierbar ist, d. h. eine geringe Reduktionsaffinität besitzt, Indophenol aber ziemlich leicht reduzierbar ist und eine hohe Reduktionsaffinität hat. Die verschiedene Sauerstoffaffinität der Gewebe zeigt sich nun in der Tat darin, daß es einige Gewebe gibt, die nur Indophenolblau reduzieren, und andere, die außerdem auch das

schwerer reduzierbare Alizarinblau reduzieren. Nirgends aber ergibt sich ein Widerspruch mit dieser „Spannungsreihe", d. h. es gibt kein Gewebe, das Alizarinblau reduzierte, aber nicht Indophenolblau.

Was nun die Auswahl der angewendeten Farbstoffe betrifft, so ließ sich Ehrlich[2]) von einem Prinzip leiten, welches zuerst wohl einige Verwunderung erregen muß. Jeder andere hätte zur Erleichterung der Technik die am leichtesten löslichen Farbstoffe gewählt. Und doch führten nur die wasserunlöslichen Farbstoffe zum Ziel, eine Tatsache, die Ehrlich selbst zunächst als paradox bezeichnet. Die Gründe für diese Auswahl sind nach Ehrlich folgende. Man darf annehmen, daß die Zellmembranen im allgemeinen für gelöste Farbstoffe undurchgängig sind, und der Ort, wo eine Aufspeicherung eines gelösten Farbstoffes statthat, nicht ein eigentlicher Bestandteil des lebenden Protoplasmas, sondern Paraplasma sei. Dagegen ist dem Eindringen feinster, aber ungelöster Partikel keine Schranke gesetzt. Eine Amöbe nimmt keine Spur eines (der damals bekannten) gelösten Farbstoffes auf, wohl aber nimmt sie mit größter Leichtigkeit ungezählte Partikel ungelösten Karmins auf. Man darf daher erwarten, daß die ungelösten Farbstoffe viel eher in das lebende, reduktionskräftige Protoplasma gelangen als die gelösten Farbstoffe, auf die das eigentliche Protoplasma immer nur aus einer gewissen Ferne wirken kann. Ferner sind die farblosen Reduktionsprodukte der löslichen Farbstoffe sehr leicht diffusibel, und es ist zu befürchten, daß die Reduktionsprodukte ebenso schnell wie sie (in den paraplasmatischen Teilen des Protoplasmas) entstehen, auch wieder ausgeschwemmt werden, während die schwerer diffusiblen Reduktionsprodukte der unlöslichen Farbstoffe sich in den Reduktionsorten selbst anhäufen können, zumal sie im Innern der für sie undurchlässigen protoplasmatischen Grenzmembran entstehen. Was nun die Grundlagen dieser Theorie betrifft, so wäre es gewiß interessant, sie durch mikroskopische Untersuchungen zu revidieren. Auch findet sich naturgemäß noch nicht die später von Ehrlich selbst entdeckte Tatsache berücksichtigt, daß viele der löslichen Farbstoffe eine spezifische Affinität zu einzelnen Zellbestandteilen haben, was für den vorliegenden Zweck ebenfalls ein gewisses Hindernis für ihre Verwertbarkeit dargestellt hätte. Wie dem auch sei, Ehrlich kam mit den unlöslichen Farbstoffen in der Tat zum Ziel. Eine zweite notwendige Eigenschaft der benutzten Farbstoffe, die nach den obigen Erörterungen nur noch einmal kurz erwähnt zu werden braucht, ist ihre Verküpbarkeit; d. h. sie müssen in reversibler Weise durch Sauerstoffentziehung Leukoprodukte und diese durch Sauerstoffzufuhr wiederum den Farbstoff glatt bilden können.

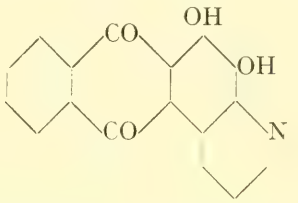
[2]) Vgl. auch: Centr. f. die med. Wissenschaften, H. 8 u. 10, **1885** [*31*, *32*].

Ist die Bedingung der Unlöslichkeit anerkannt, so kommt als fernere Bedingung sofort noch hinzu die Möglichkeit, den Farbstoff in feinster Verteilung, oder wie wir heute sagen würden, in kolloidaler Lösung den Zellen zuzuführen. Dies beschränkt die Zahl der verwendbaren Farbstoffe wiederum bedeutend und hat z. B. zur Folge, daß das älteste Prototyp der küpenbildenden, unlöslichen Farbstoffe, der Indigo, nicht angewendet werden kann. Es erwiesen sich hauptsächlich zwei Farbstoffe als geeignet für das Studium der Reduktionserscheinungen, das Alizarinblau und das Indophenol.*)

## A. Experimenteller Teil.

### I. Das Alizarinblau.

Dieser Farbstoff entsteht aus $\beta$-Nitroalizarin mit Glyzerin und Schwefelsäure, wobei eine chinolinartige Ringbildung eintritt:




Er ist in Wasser absolut unlöslich, bildet aber mit Natriumbisulfit eine lösliche Doppelverbindung, die z. B. durch Alkalien sofort Alizarinblau abspaltet. In dieser Form, dem „Alizarinblau S", wandte ihn Ehrlich an. Seine gesättigte Lösung setzt sich mit der Blutflüssigkeit sofort in Alizarinblau um, welches aber trotz seiner Unlöslichkeit nicht als Niederschlag ausfällt, sondern, geschützt durch die Eiweißkolloide, als feinste Suspension, als „Pseudosolution", wie es Ehrlich nennt, oder als „kolloidale Lösung", wir wir heute sagen würden, erhalten bleibt. Injiziert man man einem Kaninchen 12—15 ccm pro kg, so tritt der Tod in $^1/_4$ Stunde ein, während 7 ccm eine gut verwendbare mittlere tödliche Dosis darstellen. Es tritt bald nach der Injektion eine Verbläuung der Haut und der Schleimhäute ein und dann unter Krampferscheinungen der Tod. Tötet man ein Tier, welches auf der Höhe der Vergiftung steht, und nimmt schnell die Organe heraus, so findet man die Mehrzahl blau, einige aber farblos und erst allmählich an der Luft blau werdend. Letztere sind diejenigen, welche das Alizarinblau zu Alizarinweiß reduziert hatten. Denn im Blute kreist das Alizarinblau stets als solches, nicht reduziert, wird also den Organen als Blau zugeführt. Daher sind die blauen Organe diejenigen, welche das Blau nicht reduziert haben (und nicht etwa Organe,

*) Über die biologische Verwertung des Methylenblaus vgl.: l. c. [2].

welche das Weiß oxydiert hätten!), und die weißen Organe diejenigen, die es reduziert haben. Der Beweis, daß das Blau im Blut als solches und nicht als Weiß kreist, wird auf verschiedene Weise erbracht. Erstens ist rasch abgeschiedenes Serum vergifteter Tiere blau, zweitens tritt nach Punktion der Augenkammer bei solchen Tieren ein blaue Flüssigkeit vor die Iris (ein Versuch, den Ehrlich seinem bekannten Fluoreszeinversuch nachgebildet hat).

Die Erkennung, ob die herausgenommenen Organe Blau enthalten oder nicht, ist wegen der Eigenfarbe der Organe nicht immer ganz leicht. Zerquetschen der Organe zwischen dicken Glasplatten oder kurzes Einlegen in siedendes Wasser, wobei die Eigenfarbe der Organe sich dem Weiß nähert, sind brauchbare Hilfsmittel.

Die Erkennung, ob herausgenommene Organe Alizarinweiß enthalten, geschieht am besten, indem man das Organ zuerst kocht, um das weitere Reduktionsvermögen zunächst einmal zu vernichten, und dann eine frische Schnittfläche 10—15 Sekunden mit starker Kaliumbichromatlösung behandelt, wobei das Weiß zu Blau oxydiert wird. Berührt man dann diese Schnittfläche mit einem mit Natronlauge befeuchteten Skalpell, so tritt sofort die blaue Farbe auf.

Der typische Befund bei einem solchen Tier, der die Grundlage zu den weiteren Untersuchungen gibt, ist folgender:

Sofort bei der Sektion blau sind:

vor allem und am intensivsten die Glandula submaxillaris.

Ferner deutlich blau:

die graue Substanz des Zentralnervensystems,
die Muskulatur,
das Bindegewebe,
Blutserum, Lymphe, Transsudate,
Lymphdrüsen, Thymus, Nebenniere,
Epithel der Haut und der Schleimhäute,
Speicheldrüsen, Tränendrüse, Milchdrüse, Pankreas, Hoden.

Dagegen enthalten nur Alizarinweiß:

Leber (in mäßiger Menge),
Niere,
Lunge,
Hardersche Drüse des Kaninchens.

Überläßt man die herausgenommenen Organe sich selbst, so tritt bei einigen der gebläuten Organe nachträglich eine Reduktion ein, und zwar:

in wenigen Minuten bei Herz, Gehirn, Nebenniere, einem Teil der Muskulatur;

in 15—45 Minuten: bei Tränendrüse, Parotis, Lymphdrüsen;
niemals: bei der Submaxillaris, Pankreas.

Wir können somit die Organe nach ihrem Reduktionsvermögen gegen Alizarinblau in drei Kategorien einteilen:

1. Organe, die es schon während des Lebens reduzieren (Lungen, Niere, Leber, viele glatten Muskeln);
2. Organe, die es zwar nicht während des Lebens, aber bald nach dem Erlöschen der Blutzirkulation reduzieren (Herz, Muskulatur, Parotis, Lymphdrüsen usw.);
3. Organe, die es überhaupt nicht reduzieren (Pankreas, Submaxillaris).

Das meiste Interesse beansprucht hiervon die erste Gruppe der Organe, welche ein so erhebliches Reduktionsvermögen besitzt, daß sie geradezu die Leistung eines anaeroben Organismus vollbringt. Von diesen Organen muß man annehmen, daß sie ihre Sauerstoffgier dem Umstande verdanken, daß sie normalerweise äußerst wenig mit Sauerstoff gesättigt sind. Als Ursache hierfür kann man bei der glatten Muskulatur ihre besonders intensive und andauernde Tätigkeit, bei der Leber ihre großenteils nur venöse Blutzufuhr betrachten, bei der Lunge jedoch liegt eine solche Ursache nicht auf der Hand. Es ist höchst überraschend, daß die Lunge, welcher der freie Sauerstoff aus erster Quelle zuströmt, so wenig mit Sauerstoff gesättigt ist, daß sie eine so starke Reduktionsleistung zu vollbringen vermag.

Die Versuche bei anderen Tieren ergeben kleine Besonderheiten, die aber nicht wesentlicher Natur sind und daher übergangen werden können. Bemerkenswert ist z. B., daß bei der Katze auch das Fettgewebe intra vitam stark reduziert. Im allgemeinen verhält sich das Meerschweinchen wie das Kaninchen; die Katze reduziert im ganzen deutlich weniger, die Taube, bei der sogar die postmortale Reduktion erst sehr spät und nur in wenigen Organen einsetzt, noch weniger, und diese Tatsache steht in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Stoffwechseluntersuchungen, wonach die Vögel ein erhöhtes Oxydationsvermögen, daher gesteigerten Stoffwechsel, höhere Körpertemperatur usw. haben. Wichtig ist, daß auch bei den Vögeln die Lungen das reduktionskräftigste Organ sind.

Alle diese Befunde gelten aber nur für die ganz akute Überschwemmung mit Alizarinblau. Gibt man den Tieren Dosen, welche sie längere Zeit überstehen, so erfährt das Alizarinblau zum großen Teil ganz andere, sekundäre Veränderungen, und es wird auch überwiegend nicht als solches, sondern in dieser veränderten Form ausgeschieden. Diese Veränderungen bestehen in der Bildung löslicher, roter bis violetter Farbstoffe, die offenbar synthetisch aus dem Alizarinblau und irgendwelchen Körper-

bestandteilen gebildet werden. In ihrer Eigenschaft als leichtlösliche Farbstoffe sind sie nach den obigen Erörterungen nicht mehr geeignet, ein klares Bild von den Reduktionsverhältnissen zu geben. Ausgeschieden werden diese roten Farbstoffe hauptsächlich im Harn und in der Galle, und sie finden sich bei Sektionen zu geeigneter Zeit auch im Blut und in den Organen. Die Ausscheidung durch die Galle und in etwas geringerem Maße durch den Harn beginnt sehr bald nach der Injektion. Ohne auf die Frage nach der chemischen Natur näher einzugehen, legt sich Ehrlich doch die Frage vor, ob diese synthetischen Farbstoffe sich vom Alizarinblau oder vom Alizarinweiß ableiten, und die Möglichkeit, sie durch Reduktion in verküpende Leukoprodukte überzuführen, beweist, daß sie sich vom Blau ableiten und keine Reduktionsprodukte darstellen. Unter diesen Umständen haben wir den anfänglich paradoxen Befund, daß Leber und Niere, welche in ihrem Protoplasma das Blau so stark reduzieren, ein nicht reduziertes Sekret liefern.

So liegen die Verhältnisse wenigstens beim Kaninchen. Bei der Taube dagegen bilden sich die roten synthetischen Farbstoffe nicht, und gleichzeitig ist diese Tierart gegen die Vergiftung mit Alizarinblau viel empfindlicher. Es ist also anzunehmen, daß der rote Farbstoff weniger giftig ist und seine Bildung eine Entgiftungsvorrichtung darstellt.

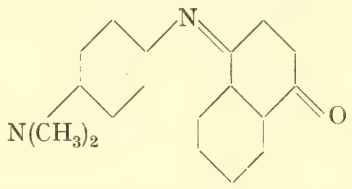
Die Verwendung des Alizarinblaus beruhte, wie erörtert, auf der Auffassung, daß die scheinbare Lösung desselben im Blut eben keine echte Lösung, sondern eine feinste Suspension darstellt. Den Beweis für diese Anschauung bringt Ehrlich nun noch durch einige Versuche. Alizarinblau ist in stärkeren Sodalösungen gar nicht löslich, in schwächeren scheinbar in ziemlicher Menge. Diese Lösungen werden jedoch durch verschiedene Eingriffe leicht ausgeflockt, diffundieren nicht und sind auch nur unter bestimmten Arbeitsbedingungen erhältlich, sie sind offenbar in vollkommenem Sinne kolloidale Lösungen. In Blutserum kann man außerordentliche Mengen von Alizarinblau in kolloidale Lösung bringen, indem man es mit seiner Bisulfitverbindung versetzt. Diese wird sofort in den blauen, freien Farbstoff umgewandelt, der infolge der Schutzkolloidwirkung der Eiweißkörper in kolloidaler Lösung bleibt. Die Aufnahme des Blaus durch die Zellen geschieht daher auch nicht durch Diffusion, sondern so wie die Aufnahme feinster Teilchen von Kohle. Die Aufnahme des Farbstoffes hängt daher aufs innigste mit rein physikalischen Eigenschaften, der Körnchengröße des Farbstoffes und der Porenweite der Zellmembran bzw. Maschenweite des Zellinhalts zusammen, und mangelnde Aufnahmefähigkeit, wie bei der Parotis, würde sich aus zu kleiner Porengröße erklären. Diesen Zusammenhang sucht Ehrlich noch dadurch zu erhärten, daß er statt des reinen Alizarinblaus seine Schwermetalllacke

anwendet, von denen man ein gröberes Korn und daher geringere Aufnahmefähigkeit annehmen konnte. Diese Annahme findet sich bestätigt, indem der Magnesiumlack noch fast ebenso wie der reine Farbstoff, der Aluminiumlack dagegen viel schwerer aufgenommen wird. Auch das Coerulein, ein dem Alizarinblau verwandter Farbstoff, der aber eine sehr große Neigung zur grobkörnigen Abscheidung hat, verhält sich im Körper, ebenso appliziert wie das Alizarinblau, diesem ganz ähnlich, nur mit dem Unterschied, daß die grobmaschigsten Organe, Niere und Leber, den Farbstoff reichlich, die feinmaschigen Organe, das Gehirn, die Speicheldrüsen fast keinen Farbstoff aufnehmen.

## II. Das Indophenol.

### a) Direkte Injektion des Farbstoffes.

Das Indophenol entsteht nach de Witt aus Dimethyl-p-phenylendiamin und $\alpha$-Naphtol und hat die Konstitution




Es bildet einen blauen, in Wasser absolut unlöslichen Farbstoff, der durch Reduktionsmittel leicht, viel leichter als Alizarinblau, in ein in Alkalien lösliches Leukoprodukt übergeht, welches an der Luft leicht wieder zu Indophenol verküpt. Es stellt somit durch seine leichte Reduzierbarkeit das erwünschte Gegenstück zu dem schwer reduzierbaren Alizarinblau dar. Zum Zwecke der Injektion in den Körper erwies sich die Indophenolweißlösung am geeignetsten, welche teils subkutan, teils intravenös den Tieren injiziert wurde. In dem sauerstoffhaltigen, alkalischen Blut erfolgt sofort Oxydation zu Indophenol, welches in kolloidaler Lösung bleibt. Man braucht zur Einführung des Indophenols auf diese Weise viel größere Flüssigkeitsmengen, und die Technik der Einführung ist daher nicht so elegant wie beim Alizarinblau. Dafür wird man dadurch entschädigt, daß das Indophenol viel ungiftiger ist, und daß vor allem keine sekundären Veränderungen mit dem Farbstoff auftreten, entsprechend der Entstehung der roten löslichen Farbstoffe beim Alizarinblau. Zum Nachweis des Indophenolweiß in den Organen genügt es, diese mit neutralem Kaliumchromat zu behandeln, wobei ein tiefblau gefärbter Chromlack des Indophenolblau entsteht, der auch in Alkohol unlöslich ist und deshalb gut konserviert werden kann.

Die subkutane Injektion des Indophenolweiß wird ohne sichtbare Erscheinungen und ohne Verbläuung der Haut von den Tieren vertragen und führt schließlich ohne charakteristische Symptome unter Kräfteverfall zum Tode. Entsprechend der leichten Reduzierbarkeit des Farbstoffes findet sich nach der Sektion derselbe ganz überwiegend in Form von Indophenolweiß in den Organen. Nur das Gehirn und das Herz werden blau. Beim Gehirn bläut sich, wie beim Alizarinblau, nur die graue Substanz, wird aber postmortal schnell durch Reduktion farblos. Das Herz ist ebenfalls stets blau. Bei sistierter Atmung wird das Blau des Herzens schnell reduziert, um bei erneuter Sauerstoffzufuhr sofort wieder blau zu werden. Die Lunge, die schon Alizarinblau energisch reduzierte, enthält stets reichlich Indophenolweiß, nur können einzelne Partien, welche die Ausdehnung der bekannten keilförmigen Lungeninfarkte haben, blau sein, was auf Zirkulationsstörungen im Gebiete der Lungenarterie leicht zurückzuführen ist. Auffällig ist nun, daß die drüsigen Organe, welche zum Teil (Submaxillaris!) Alizarinblau so reichlich aufnehmen, Indophenol fast gar nicht aufnehmen. Auch die Leber enthält nur wenig Indophenolweiß, obwohl sie eine intensiv blau gefärbte Galle sezerniert.

Die intravenöse Einführung des Indophenol stellt eine plötzlichere Überschwemmung des Körpers mit Indophenol dar, welches infolge seiner rascheren Entstehung aus dem Indophenolweiß auch ein gröberes Korn hat. Dementsprechend finden sich hierbei die infarktförmigen Verbläuungen in der Lunge sowie ähnliche Verbläuungen in der Peripherie der Leberacini, welche sich durch das Ausbleiben jeder postmortalen Reduktion von den eigentlichen vitalen Indophenolfärbungen schon leicht unterscheiden. Das Herz und das Gehirn sind noch intensiver gebläut als nach subkutaner Injektion, und es bläuen sich außerdem eine ganz bestimmte Gruppe von Muskeln, Zwerchfell-, Augen-, Zungen-, Kehlkopfmuskeln, sowie die Nierenrinde (und in geringer Weise noch einige andere drüsige Organe).

Schließlich muß noch ein scheinbarer Widerspruch zwischen den Alizarinblau- und den Indophenolversuchen aufgeklärt werden. Während sich Alizarinblau in irgendeiner Form in fast allen Organen findet, geht das Indophenol nur in relativ wenige Organe über, vor allem nicht in die meisten Drüsen. Es sei daran erinnert, daß die Submaxillaris besonders intensiv Alizarinblau aufnimmt, aber fast gar kein Indophenol. Ehrlich erklärt das auf folgende Weise. Fütterungsversuche lehren, daß Alizarinblau ohne Störungen durch den Darmkanal geht, Indophenol dagegen heftige Diarrhöen erzeugt. Man kann daraus schließen, daß das in die Epithelzellen aufgenommene, sofort reduzierte Indophenol ein starkes

Reizmittel des Protoplasmas ist, während das lange Zeit als ungelöstes blaues Korn in der Zelle verweilende Alizarinblau keinen erheblichen Reiz auslöst. Und so wird es auch bei Subkutanversuchen mit den übrigen Körperzellen sein. Man kann nun annehmen, daß die verschiedenen Zellen in dem Maße, wie sie durch das zuerst aufgenommene und reduzierte Indophenol gereizt werden, mit irgendeiner im Wesen uns unbekannten Abwehr gegen die weitere Aufnahme des Indophenol antworten, so daß die am stärksten durch Indophenolweiß reizbaren Zellen sich gegen eine irgendwie erhebliche Indophenolaufnahme sperren. So erfüllt also eigentlich das Indophenol nicht mehr ganz streng die geforderten Eigenschaften eines brauchbaren Farbstoffes, daß seine Verteilung nach rein mechanischen Prinzipien erfolgt. Es ist interessant, daß Ehrlich die später von ihm in so vielen Beispielen erwiesene spezifische Affinität der Farbstoffe noch ganz außer Spiel läßt, offenbar weil er dem ungelösten Alizarin jede spezifisch chemische Wirkung absprechen muß, nach dem Grundsatz: corpora non agunt nisi fluida.

### b) Vitale Indophenolsynthesen.

Indophenol entsteht entweder, wenn ein Gemisch von Dimethylparaphenylendiamin und einem Phenol oxydiert wird (I) oder durch direkte Vereinigung von Nitrosodimethylanilin und einem Phenol (II):

I. $N(CH_3)_2.C_6H_4.NH_2 + C_6H_5.OH + O \longrightarrow$
$\underbrace{N(CH_3)_2.C_6H_4.NH - C_6H_4}_{\text{Indophenolweiß}}.OH + H_2O$

(wird durch weitere $O_2$-Aufnahme sofort zu Indophenolblau).

II. $N(CH_3)_2.C_6H_4.NO + C_6H_5.OH \longrightarrow \underbrace{N(CH_3)_2.C_6H_4.N = C_6H_4:O}_{\text{Indophenolblau.}}$

Ehrlich injizierte nun auch intravenös die den Formeln I resp. II entsprechenden Ausgangsgemische. Das Gemisch I gibt klare Resultate, und zwar ein Resultat, welches man unbefangen aus der Theorie nicht ohne weiteres erwartet hätte. Injiziert man nämlich ein Gemisch von Dimethyl-p-phenylendiamin und einem Phenol (z. B. $\alpha$-Naphtol), so findet die unter Oxydation vor sich gehende Synthese zu Indophenolblau in denselben Organen statt, welche sich bei der direkten Indophenolinjektion blau färben. Es fällt also auf, daß dieselben Organe, welche Indophenol am schwächsten reduzieren, auf das Gemisch am stärksten oxydierend wirken. Dies ist zwar in gutem Einklang mit der Theorie. Nicht ganz so leicht ist aber zu verstehen, daß die anderen Organe das

Diamin-Naphtol-Gemisch nicht einmal als solches aufnehmen; denn diese Organe erzeugen postmortal durch Oxydationsmittel kein Indophenolblau. Ehrlich deutet das durch Heranziehung des Verteilungssatzes. Diejenigen Organe, in deren Innerem das aufgenommene Gemisch durch Oxydation zu Blau gleich wieder verschwindet, ziehen immer wieder neue Mengen des Gemisches nach; wo aber das Gemisch als solches bestehen bleibt, herrscht schon nach dem Eindringen der ersten kleinen Portionen desselben Verteilungsgleichgewicht.

Nicht ganz so verständlich liegen die Verhältnisse bei dem Gemisch II. Dieser Prozeß sollte nach der Formel eigentlich ohne Oxydation oder Reduktion durch bloße Wasserabspaltung vonstatten gehen. Dies ist auch in alkoholischer Lösung bei höherer Temperatur der Fall. In wässerigen, besonders schwach alkalischen Lösungen dagegen verläuft dieser Prozeß erst bei Anwesenheit von Reduktionsmitteln, wie Zinnoxydul, welche die Indophenolbildung durch einen nicht leicht verständlichen Chemismus erst einleiten. Man darf daher annehmen, daß diese Reaktion auch im Körper nur durch die reduzierende Wirkung der Zellen eingeleitet wird, und daß das Blau der Organe daher eine Reduktion anzeigt. Der Versuch ergibt nun bei dem Gemisch II wiederum dasselbe Bild wie bei der direkten Injektion des Indophenolweiß oder des Diamingemisches, und dieselben Organe, die sich dort als am sauerstoffgesättigsten erweisen, zeigen hier demnach eine Reduktionswirkung, und es zeigt sich, daß selbst die am meisten mit Sauerstoff gesättigten Organe noch nicht maximal mit ihm gesättigt sind. Besonders auffällig ist aber der Befund, daß die gut reduzierenden Organe das Nitrosogemisch so schlecht aufnehmen. Ihre mangelnde Verbläuung könnte man ja darauf leicht zurückführen, daß das gebildete Blau in diesen Organen sofort reduziert würde. Aber es läßt sich in diesen Organen durch nachträgliche Oxydation die Anwesenheit von Indophenolweiß nicht erbringen, so daß man zu dem Schluß gezwungen ist, daß diese Organe das Gemisch überhaupt nicht aufnehmen. Die Heranziehung des Verteilungsgesetzes würde hier zur Erklärung versagen, und Ehrlich geht auch nicht näher hierauf ein.

---

Soweit der experimentelle Befund. An Theorien hat Ehrlich bisher nur diejenigen eingeführt, welche die unmittelbare Deutung der Versuche geben sollen, während der eigentliche theoretische Teil, der die Sache von einem höheren Gesichtspunkte betrachtet, erst den nächsten Abschnitt des Werkes bildet. Überblicken wir nun zunächst von einem durch fast 30jährige, zum großen Teil von Ehrlich selbst gemachte Erfahrungen erweiterten Gesichtspunkt das Zusammenstimmen der Befunde mit den bisher referierten theoretischen Anschauungen, so können wir

behaupten, daß der Kern der Anschauungen im großen und ganzen geblieben ist. Auch die Art der Methodik und der Fragestellung erscheint auch heute noch neu und originell. Aber zweifellos würde manche Einzelheit von Ehrlich selbst heute anders dargestellt werden. Dies Werk bildet so recht den Inhalt der Sturm- und Drangperiode eines großen Forschers, und, so wertvoll es an sich sein mag, sein Hauptwert besteht doch darin, daß hier die Ideen geboren wurden, deren Ausarbeitung und Umgestaltung das spätere Lebenswerk des Forschers darstellten. Wer weiß, ob Ehrlich bei der Beurteilung der Verteilung der Farbstoffe in den Organen auch heute so gänzlich auf die spezifischen Verteilungsaffinitäten verzichtet hätte, ob er auch heute dem Zustand der kolloidalen Lösung jede Möglichkeit einer spezifischen Verteilung in den Organen abgesprochen hätte und allein mechanische Ursachen der Verteilung hätte gelten lassen. Aber die Frage nach der Verteilung ist hier die unwesentlichere. Was mit dem Farbstoff geschieht, nachdem er einmal in die Zelle eingedrungen ist, ob er reduziert wird oder nicht, darüber würde sich Ehrlich heute zweifellos ebenso äußern wie vor 28 Jahren. Zweifellos hätte Ehrlich, wenn er diese Arbeit zu einer späteren Zeit gemacht hätte, seine Ansichten über die Topographie des eingedrungenen Farbstoffes auch durch mikroskopische Untersuchungen gestützt. Leider ist dies bis heute auch von keiner Seite nachgeholt worden, soviel auch über die Topographie anderer vitaler und nicht vitaler Farbstoffe gearbeitet worden ist.

## B. Theoretischer Teil.

„Wenn ich . . ., statt mich auf das Tatsächliche zu beschränken, auch von den Ansichten und Spekulationen, die sich mir im Laufe einer langen Untersuchungsreihe von selbst aufdrängten, das mir als das wesentlichst Erscheinende mitteile, so glaube ich zu solchem Handeln darin Rechtfertigung zu finden, daß ein Fortschritt in der Erkenntnis nur vom theoretischen Gesichtspunkt aus erfolgen kann, und daß somit eine selbst verfehlte Theorie immer noch fruchtbringender wirken kann, als rohe Empirie, die ohne Erklärungsversuch die Tatsachen registriert."

Dieser der Ehrlichschen Arbeit wörtlich entnommene Satz zeigt uns am besten, wie der Autor seine nunmehr zu entwickelnde Theorie über das Sauerstoffbedürfnis des Protoplasmas verstanden haben will. Er ist einerseits weit entfernt davon, sie als etwas Unumstößliches, Abgeschlossenes zu betrachten, aber doch andererseits von ihrem hohen heuristischen Wert überzeugt, und er ist in dieser Auffassung durch die weitere Lebensarbeit befestigt worden.

Die Affinität einer chemischen Reaktion kann, so führt Ehrlich

aus, nach Berthelot gemessen werden durch die Wärmemenge, welche bei dem Umsatz der molaren Masseneinheiten der reagierenden Stoffe frei wird. Wenn z. B. 1 Mol Phosphorsäure + 1 Mol NaOH in wässeriger Lösung sich zu primärem Natriumphosphat + $H_2O$ umlagert, so werden 14,7 Kalorieen frei. Wenn weiter 1 Mol prim. Natriumphosphat + 1 Mol NaOH sich zu sekundärem Natriumphosphat + $H_2O$ umsetzt, so werden 11,6 Kalorieen frei; und wenn schließlich 1 Mol sek. Natriumphosphat + 1 Mol Natronlauge sich zu tertiärem Natriumphosphat + $H_2O$ umsetzt, so werden 7,3 Kalorieen frei. Hieraus kann man schließen, daß die drei alkalibindenden Gruppen der Phosphorsäure eine verschiedene Avidität zu Natronlauge haben; das erste Mol wird mit der größten Avidität, das dritte mit der kleinsten Avidität gebunden.

Um nun die Sauerstoffavidität des Protoplasmas zahlenmäßig zu messen, müßte man die Wärmemenge feststellen, welche bei der Bindung von völlig reduziertem Protoplasma mit Sauerstoff frei würde. Es ist nun anzunehmen, daß das lebende Protoplasmamolekül nicht nur eine, sondern viele sauerstoffbindende Seitenketten besitzt, und daß diese eine verschiedene Affinität zum Sauerstoff besitzen; oder mit anderen Worten, es gibt in jedem Protoplasmamolekül mehrere „Sauerstofforte", und zwar „verschiedener Avidität". Die höchstaviden Sauerstofforte werden bei der Bindung pro Mol aufgenommenen Sauerstoffs mehr Kalorieen entwickeln als die weniger aviden Sauerstofforte. Ist die dem Protoplasma zur Verfügung gestellte Menge $O_2$ kleiner als seiner totalen Sättigung entspricht, so werden zunächst die avidesten Orte abgesättigt werden und die weniger aviden übrig bleiben. Je nach der Menge des dem Organ durch die Zirkulation zugeführten $O_2$ werden also nicht die Sauerstofforte der Zahl nach in verschiedenen Organen verschieden abgesättigt sein, sondern es werden auch in den weniger sauerstoffreichen Organen die weniger sauerstoffgierigeren Seitenketten sein, welche $O_2$-frei bleiben. Nun zeigte das Experiment, daß es erstens Organe gibt, welche im Leben sowohl das schwer reduzierbare Alizarinblau, als auch das leichter reduzierbare Indophenol reduzieren. Wir brauchten also nur eine kalorimetrische Messung der Sauerstoffavidität des Alizarinweiß vorzunehmen, um einen unteren Grenzwert der Sauerstoffavidität dieser Organe zahlenmäßig zu erhalten. Hierhin gehört vor allem die Lunge. Ferner gab es Organe, welche zwar Indophenol, aber nicht Alizarinblau reduzierten. Deren $O_2$-Avidität steht also in der Mitte zwischen der kalorimetrisch meßbaren Sauerstoffgier des Indophenolweiß und des Alizarinweiß (Leber). Drittens gab es Organe, die nicht einmal Indophenolblau reduzierten (Herz, einige Muskeln und Drüsen); deren Protoplasma ist also soweit mit $O_2$ gesättigt, daß die $O_2$-frei bleiben-

den Seitenketten sogar eine geringere $O_2$-Gier haben als Indophenolweiß. Die so bestimmten $O_2$-Aviditäten der verschiedenen Organe sind gültig für die Bedingung normaler Sauerstoffversorgung durch die Zirkulation. Hört diese auf, so steigt das Reduktionsvermögen, und es werden vital blau gefärbte Organe postmortal noch reduziert. So kann man zeigen, daß in einem von der Zirkulation abgeschnittenen Organ nicht etwa nur die Zahl seiner $O_2$-bindenden Seitenketten wächst, sondern auch Sauerstofforte von höherer Avidität als bei normaler $O_2$-Zufuhr frei werden.

So stellt Ehrlich folgende Art von Sauerstofforten auf (wörtlich):

„Die erste von ihnen umfaßt die Orte der höchsten Sauerstoffaffinität; sie verharrt während der normalen Tätigkeit der Organe stets in gesättigtem Zustande und stellt somit, da sie erst im Notfall, wenn die Zelle unter Sauerstoffmangel existieren soll, verwandt wird, die Sauerstoffreserve des Protoplasmas dar. Die zweite Gruppe enthält diejenigen Sauerstofforte, die während der normalen Tätigkeit der Zelle funktionieren, indem sie hierbei bald oxydiert, bald reduziert werden; die dritte diejenigen, die auch während der normalen Tätigkeit der Zelle stets unbesetzt bleiben, und die daher eine kontinuierliche Zugkraft auf den Blutsauerstoff ausüben. Es folgt aus dieser Definition, daß das funktionierende Protoplasma gleichsam ein Janusgesicht besitzen muß, indem es einerseits durch Vermittlung seiner sauerstoffgesättigten Orte bestimmte Verbindungen oxydieren und andere Verbindungen mit Hilfe der ungesättigten Gruppen reduzieren kann."

Diese Theorie war durchaus neu und stand in einem völligen Gegensatz zu der Lehre von Pflüger, der physiologischerweise volle Sauerstoffsättigung des Protoplasmas annimmt. Es ist vielleicht nach den heutigen Erkenntnissen nicht streng zutreffend, die Affinitätsgröße einer chemischen Reaktion nach ihrer Wärmetönung zu messen, da sich das Berthelotsche Prinzip nicht als genau zutreffend erwiesen hat. Aber erheblichere Abweichungen von diesem Prinzip können nur bei sehr hohen Reaktionstemperaturen auftreten, und für die bei Körpertemperatur verlaufenden Reaktionen kann man, wenigstens angenähert, daran festhalten, daß das Berthelotsche Prinzip einigermaßen zutrifft, was bekanntlich bei extrem niederen Temperaturen sogar streng richtig ist. Charakteristisch ist ferner für die Auffassung Ehrlichs, daß er stets mit der Vollständigkeit der chemischen Bindungen rechnet und unvollständig verlaufende Reaktionen nicht mit in Betracht zieht. Aber all das kann die Richtigkeit des Grundgedankens nicht umstoßen, daß es im Protoplasma verschiedenartige, sauerstoffbindende Orte mit verschiedener Affinität zum Sauerstoff gibt, und diese Theorie reicht zur Erklärung der beobachteten Tatsachen vollkommen aus, und sie ist auch die Grund-

lage der Ehrlichschen Anschauungen über die Affinitäten von Toxin und Antitoxin, über ihre gegenseitige Absättigung und ihre Aviditätsverhältnisse geworden.

Der Inhalt des „Sauerstoffbedürfnisses" ist hiermit bei weitem nicht erschöpft. Wenn ich den Rest des Inhalts nicht näher erörtere, so geschieht das, weil dieses Referat schon eine ungebührlich breite Ausdehnung angenommen hat und ich die Größe der bisher erörterten allgemeinen Ideen durch die Übergehung eines an sich reichen Materials, das aber im Vergleich zu den bisherigen nicht von derselben allgemeinen Bedeutung ist, um so mehr hervorheben und ihre weitere Bearbeitung einer folgenden Generation dringend anempfehlen möchte.

3.

# Farbenanalytische Studien.

Von

**L. Michaelis,**
Berlin.

Im vorigen Kapitel wurden die Bestrebungen Ehrlichs besprochen, den Chemismus der lebenden Zelle aus den chemischen Veränderungen von Farbstoffen zu studieren, welche man auf sie einwirken läßt. Das Eingreifen der chemischen Bindungen wurde dabei durch geeignete Auswahl der Farbstoffe möglichst in den Hintergrund geschoben. Jetzt müssen wir uns mit denjenigen Untersuchungen befassen, welche gerade die chemische Bindung der Farbstoffe an die Gewebsbestandteile betreffen.

Zwar wurden schon vor Ehrlich Farbstoffe benutzt, um mikroskopische Präparate zu färben, aber doch fast ausschließlich handelt es sich hier um eine Erleichterung der mikroskopischen Topographie, zumeist um eine Kernfärbung, welche weder als mikrochemisches Reagens benutzt wurde, noch darauf ausging, spezifische Farbstoffaffinitäten aufzudecken, sondern eben nur eine Erleichterung des mikroskopischen Arbeitens darstellen sollte. Die Auffindung spezifischer Farbstoffaffinitäten und ihre chemische Ergründung beginnt erst mit Ehrlich und ist auch danach durch andere Forscher im Vergleich dazu nur wenig über den Standpunkt hinausgebracht worden, den Ehrlich erreicht hat.

Das Licht, welches durch die Ehrlichschen Untersuchungen auf die spezifischen Farbstoffaffinitäten der Gewebselemente gebracht worden ist, beruht zunächst einmal in der prinzipiellen Scheidung zwischen basischen und sauren Farbstoffen. Die basischen Farbstoffe sind Salze, deren basische Komponente den Farbstoffcharakter trägt, die sauren sind Salze, deren saure Komponente den Farbstoffcharakter trägt. In seltenen Fällen werden auch die freien Farbbasen, etwas häufiger die

freien Farbsäuren angewendet, jedoch steht deren Anwendung unter anderem meist ihre geringe Löslichkeit in Wasser entgegen. Als erstes Grundgesetz kann man folgendes hinstellen:

Bei der Einwirkung der Farbstoffe auf Gewebe, welche abgetötet oder fixiert sind (durch Hitze, Alkohol oder ein anderes möglichst indifferentes Fixationsmittel), zeigen ganz allgemein die Kerne eine Affinität zu den basischen Farbstoffen, die meisten protoplasmatischen Substanzen überwiegend eine Affinität zu den sauren Farbstoffen.

Die verschiedenen basischen und sauren Farbstoffe sind unter sich nicht gleichwertig; auch für die gewöhnlichsten Färbungen kommt es sehr auf die Auswahl des geeignetsten Farbstoffs an. So verdankt man Ehrlich[1]) z. B. die Auswahl des Methylenblaus zu Bakterienfärbungen, die sich als eine glückliche und bis heute unübertroffene Wahl gezeigt hat, weil dieser Farbstoff trotz größter Färbekraft wenig Neigung zu diffuser Überfärbung zeigt. Deshalb führte Ehrlich das Methylenblau z. B. auch für die Färbung der Gonokokken ein.

Bezüglich der Wahl des Fixationsmittels, welches die verschiedenen Farbaffinitäten möglichst gut zum Ausdruck bringen soll, hat Ehrlich in jüngster Zeit in einer durch seinen Schüler St. Szécsi[2]) vorgenommenen Untersuchung durch die Einführung des Lucidols einen erheblichen Fortschritt gemacht. Dieses Mittel ist Benzoylsuperoxyd und wird in Aceton (50:500) oder Pyridin (30:250) gelöst und eignet sich sowohl für Abstrich- wie für Einbettungspräparate. Es handelt sich um eine oxydative Fixation, welche aber im Gegensatz zu allen bisher angewandten oxydativen Fixationsmitteln jede Berührung mit einem wässerigen Medium vermeidet. (Sie ist deshalb noch besonders wertvoll, weil die Purpurfärbung des Chromatins bei der Methylenazur-Eosin-Färbung besonders gut gelingt.)

Die Unterschiede der Affinitäten sind nicht immer absolut streng; die Kerne nehmen unter Umständen auch saure Farbstoffe an, besonders die dunklen, hochmolekularen (Nigrosin, Indulin); und protoplasmatische Substanzen nehmen auch basische Farbstoffe an (z. B. färben sich fixierte rote Blutkörperchen mit Methylenblau). Aber die Affinitäten der Kerne zu den basischen Farbstoffen sind weit überwiegend; färbt man Blutkörperchen in sehr verdünnten wässerigen Lösungen oder in Farbstofflösungen, welche gleichzeitig ein Extraktionsmittel, wie Alkohol, Säure, Glyzerin, enthalten, so nehmen die Kerne nur basische Farbstoffe auf, und mit den meisten protoplasmatischen Substanzen ist es umgekehrt.

---

[1]) Zeitschr. f. klin. Med. **II**, 710; **1881** [*9*].

[2]) Dtsch. med. Wochenschr., H. 33, S. 1586, **1913** [*594*].

### a) Die Färbung der Zellgranula.

Einige Farbstoffaffinitäten gibt es jedoch auch beim fixierten Gewebe, welche ganz streng spezifisch sind: die eosinophilen Granula nehmen immer nur saure, die basophilen (Mastzellen-) Granula immer nur basische Farbstoffe auf, und die neutrophilen Granula lassen sich nur vermittels der „neutralen Farbstoffgemische" färben. Diese drei Arten von Zellgranula sind daher für die Farbanalyse von besonderer Bedeutung geworden, und es soll auf sie deshalb näher eingegangen werden.

#### 1. Die basophilen oder Mastzellengranula.

Die Entdeckung der Mastzellen ist die Erstlingsarbeit Ehrlichs.[3] [4] Im Jahre 1877 fand Ehrlich im Bindegewebe gewisse Zellen, in deren Protoplasma stark mit basischen Farbstoffen färbbare, distinkte Granula lagen. Er glaubte zunächst, daß diese Zellen mit den kurz vorher von Waldeyer beschriebenen Plasmazellen identisch seien. In einer bald danach erschienenen Arbeit zeigte Ehrlich[5] jedoch, daß diese Identifizierung nicht zutrifft, und daß seine basophil granulierten Zellen eine Zellart für sich sind. Da er sie bei Überernährungszuständen des Bindegewebes besonders reichlich antraf, so bei chronischen Entzündungen, Tumoren, gab er ihnen den Namen „Mastzellen", und dieser Name hat sich bis heute gehalten.

Die Granula der Mastzellen färben sich nur mit basischen Farbstoffen, aber mit jedem derselben. Sie haben aber noch eine andere charakteristische Eigentümlichkeit, die Metachromasie, d. i. die Eigentümlichkeit, daß sie den Farbstoff oft in einer anderen Nuance als die Kerne annehmen. Diese Erscheinung tritt überwiegend bei den violetten basischen Farbstoffen ein, welche Kerne blau bis blauviolett, Mastzellengranula rot bis rotviolett färben. Eine ähnliche Erscheinung war schon für die Amyloidsubstanz bekannt, welche sich bekanntlich in Methylviolett rot färbt.

Nachdem die spezifische Affinität der Mastzellengranula zu den basischen Farbstoffen erkannt war, stellte sich Ehrlich das Problem, eine elektive Färbung für Mastzellengranula auszuarbeiten, d. h. eine Färbemethode, welche allein die Mastzellengranula färbte und daher als mikrochemisches Reagens auf diese benutzt werden konnte. Die Lösung dieses Problems ist die erste streng elektive Färbung, die überhaupt bekannt geworden ist. Diese Methode beruht darauf, daß die anderen

[3] Arch. f. mikrosk. Anat., **XIII**, 263, **1877** [*1*].

[4] Vgl. auch Westphal, J.-D. Berlin **1880** [*605*].

[5] Berl. Physiol. Ges. 1878/79, Nr. 8; Arch. f. Anat. u. Phys., Phys. Abt. S. 166; **1879** [*2*].

basophilen Gewebselemente, vor allem die Kerne, eine geringere Affinität zu den basischen Farbstoffen haben, als die Mastzellengranula. Wenn daher die Färbekraft eines basischen Farbstoffes durch gleichzeitige Anwesenheit eines Extraktionsmittels herabgesetzt wurde, so mußte sich erreichen lassen, daß nur diejenigen Elemente den Farbstoff annahmen, welche die größte Affinität hatten. Solche Extraktionsmittel sind im allgemeinen von Ehrlich angewendet worden in Form von Alkohol, Glyzerin, Säuren u. dgl.

Im speziellen empfahl Ehrlich für die Mastzellen folgende Lösung: 100 ccm Wasser, 50 ccm absoluter Alkohol, gesättigt mit Dahlia (ein dem Methylviolett verwandter basischer Farbstoff), 10—12 ccm Eisessig. Hier funktionieren der Alkohol und die Essigsäure als ein Hemmungsmittel für die Färbung, und diese Farblösung bewirkt eine elektive Färbung der Mastzellengranula, während die, ja auch basophilen, Kerne ungefärbt bleiben.

Wenn man eine ähnliche Lösung nun noch mit Karmin kombiniert, so erhält man gleichzeitig eine rote Gegenfärbung der Kerne. Dazu eignet sich z. B.:

100 ccm einer Karminlösung nach Partsch-Grenacher,
100 ccm Glyzerin,
100 ccm stark Dahlia-haltiger abs. Alkohol,
20 ccm Eisessig; Färbung 24 Stunden.

Nachzutragen wäre jedoch noch, daß auch die Bakterien in dieser Lösung die Färbung des basischen Farbstoffs annehmen.

### 2. Die eosinophilen Zellen.[6] [7] [8]

Die Granula der eosinophilen Zellen ($\alpha$-Granula) bilden das vollständige Gegenstück der Mastzellengranula. Sie färben sich mit allen sauren Farbstoffen und mit keinem einzigen basischen. Ihre Affinität zu den sauren Farbstoffen ist so groß, daß man für sie ganz analog, wie es bei den Mastzellen war, durch Zusatz von Extraktionsmitteln zur Farbstofflösung elektive Färbungen erhält. Diese elektiven Färbungen lassen sich nun für die eosinophilen Zellen in noch viel höherem Maße durchbilden als für die Mastzellen. Die verschiedenen sauren Farbstoffe verhalten sich nämlich gegenüber den eosinophilen Granula etwas verschieden. Ehrlich unterscheidet unter den sauren Farbstoffen folgende Klassen:

---

[6]) Verhandl. d. physiolog. Gesellsch. Berlin, **1878/79**, Nr. 20; Arch. f. Anat. u. Phys., Phys. Abt., S. 571; **1879** [*3*].

[7]) Vgl. Schwarze, I.-D. Berlin **1880** [*579*].

[8]) Naturforscher-Versammlung, Breslau, **1904** [*87*].

A. Die stark sauren Farbstoffe der Fluoreszeinreihe.

B. Die Nitrofarbstoffe.

C. Die Sulfosäuren. Sie zerfallen in zwei Unterabteilungen:

a) schwer diffundierende Sulfosäuren: Indulin, Nigrosin, Bengalin,

b) die Azofarbstoffe.

In jeder dieser Gruppen gibt es nun eine Klasse, welche die eosinophilen Granulationen stark färbt, derart, daß nicht nur ihre wässerige Lösung sie färbt, sondern sogar ihre Lösung in Glyzerin, welches als starkes Extraktionsmittel für Farbstoffe die Färbekraft aller Farbstoffe stark herabsetzt; und eine zweite Klasse, welche geringere Affinität zu den eosinophilen Körnchen hat und diese nur aus wässeriger Lösung färbt. Beispiele für diese Klassen sind:

| | I. | II. |
|---|---|---|
| | auch aus Glyzerinlösung färbend: | nur aus wässeriger Lösung färbend: |
| A. | Eosin, Methyleosin, Coccin, Pyrosin J und R, | Fluoreszein, Chrysolin, |
| B. | Aurantia (Hexanitrodiphenylamin), | Pikrinsaures Ammon, Naphtylamingelb, |
| C. a) | Indulin, Bengalin, Nigrosin, | |
| b) | Tropaeolin, Bordeaux, Ponceau | Orange, Echtgelb. |

Zur Charakterisierung der eosinophilen Granula ist erforderlich, daß sie sich mit jedem Farbstoffe der Reihe I aus Glyzerinlösung (und natürlich aus wässeriger Lösung), mit jedem Farbstoff der Gruppe II aus wässeriger Lösung färben. Erfahrungsgemäß genügt zur Identifizierung die Anwendung folgender 3 Lösungen:

1. stark rotes Eosinglyzerin,
2. mit Indulin gesättigtes Glyzerin,
3. konzentrierte wässerige Lösung von Orange.

Als ein Beispiel von Substanzen mit ebenfalls stark acidophiler Beschaffenheit, die sich aber doch von den eosinophilen Granula unterscheiden, führt Ehrlich die „Kristalloide" des Froscheies an, die sich in Eosin und Methyleosin ebensogut färben wie die eosinophilen Granula, aber Indulin gar nicht und Orange nur schwach annehmen.

Als weiteres Differenzierungsmittel ist aber noch eine Probe erforderlich: in einer Glyzerinlösung von Eosin + Indulin müssen sich die eosinophilen Granulationen purpurrot färben. Ehrlich fand nämlich noch eine zweite Sorte von acidophilen Granula in Knochenmarksleukocyten des Kaninchens, die in diesem Gemisch das Indulin bevorzugen und sich schwarz färben, und die er im Gegensatz zu den eosinophilen (α)

Granulationen die $\beta$-Granulation nennt. Freilich hält Ehrlich die Substanz der $\alpha$- und $\beta$-Granulationen nicht für prinzipiell voneinander verschieden. Zu dieser Auffassung kommt er durch folgende Beobachtung. Wenn man eine horizontal befestigte Kupferplatte an einem Ende dauernd mit einer Flamme erhitzt, so stellt sich von dem erwärmten zu dem nicht erwärmten Ende hin bald ein beständiges Temperaturgefälle ein. Fixiert man nun lufttrocken gewordene Trockenpräparate durch Auflegen auf verschieden heiße Teile der Kupferplatte, so ändert sich die Farbaffinität der $\alpha$-Granulation je nach der Temperatur der Fixation. Die am heißesten fixierten Granula färben sich in einem Eosin-Nigrosin-Glyzeringemisch rein rot, und mit abnehmender Temperatur nehmen sie immer mehr Nigrosin auf. Daraus kann man schließen, daß die am höchsten erhitzten, wasserärmsten Granula nur das Eosin in sich hineindiffundieren lassen, während die noch etwas wasserhaltigen, ungenügender erhitzten Granula Nigrosin annehmen, offenbar, weil die Micellen, aus denen ein einzelnes Granulum besteht, mit zunehmender Austrocknung zusammenschrumpfen und ihre intermicellaren Zwischenräume verkleinern und so dem gröber molekularen, schwerer diffundierenden Nigrosin immer unzugänglicher werden. Man kann annehmen, daß die $\beta$-Granulationen sich von den $\alpha$-Granulationen einfach dadurch unterscheiden, daß die ersteren von Natur aus wasserreicher sind; es ist anzunehmen, daß die wasserreicheren, lockerer gefügten $\beta$-Granulationen eine Vorstufe der $\alpha$-Granulationen sind.

Über die chemische Natur der eosinophilen Granula äußert sich Ehrlich weiter dahin, daß er ihre Identität mit dem Hämoglobin entschieden ablehnt. Als Gründe dafür führt er an:

1. Das Hämoglobin nimmt in Eosinglyzerin nicht nur keinen Farbstoff an, sondern es diffundiert sogar in nicht fixierten Präparaten in die Farblösung hinein.

2. Hämoglobin hat eine viel größere Verwandtschaft zu den Nitrofarbstoffen als zum Eosin. Eine Glyzerinlösung von pikrinsaurem Ammoniak oder Naphtylamingelb färbt Hämoglobin intensiv, läßt aber eosinophile Granula ungefärbt. Darauf beruht eine schöne Simultanfärbung: 5%iges Karbolglyzerin (welches gleichzeitig als Fixationsmittel für das Hämoglobin wirkt), wird mit Eosin und mit pikrinsaurem Ammon gesättigt. In lufttrockenen, weiter nicht fixierten Blutpräparaten färben sich hierin eosinophile Granula rot, Hämoglobin gelb.

3. Durch eine gewisse Temperatur auf der Kupferplatte wird die Färbbarkeit des Hämoglobins vernichtet, während die der eosinophilen Körnchen bei viel höherer Temperatur erhalten bleibt.

Ferner beschreibt Ehrlich noch im Bindegewebe des Frosches Zellen mit den gleichen eosinophilen Körnchen, die aber nicht Leukocyten sind,

sondern aus fixen Bindegewebszellen hervorgehen und ein Analogon der Bindegewebsmastzellen darstellen.

### 3. Die neutrophilen Granula.

Die bisher beschriebenen granulierten Zellen (welche sowohl im Blut, wie auch, in anderen Modifikationen, als fixe Bindegewebszellen vorkommen), die Mastzellen und die eosinophilen Zellen, bilden nur einen verschwindend kleinen Teil der Leukocyten des Blutes. Die Hauptmenge zeigt weder basophile noch acidophile Körnchen. Unter diesen Umständen kam Ehrlich auf den Gedanken, ob nicht in diesen übrigen Leukocyten Körnchen von noch anderen Farbaffinitäten vorhanden seien, und es bleibt nur eine Klasse von Farbstoffen übrig, die allerdings sonst noch nirgends eine Rolle gespielt haben und von Ehrlich ad hoc definiert worden sind: die neutralen Farbstoffe[9])[10]). Er versteht darunter Salze, die aus einer Farbsäure und einer Farbbase zusammengesetzt sind. Die Anwendung derselben bietet die große Schwierigkeit, daß diese Körper alle in Wasser kaum löslich sind. Aus alkoholischer Lösung entfalten sie aber die gewünschte Eigenschaft nicht.

Ehrlich gelang es aber, sie durch einen Kunstgriff in wässerige Lösung zu bringen. Versetzt man nämlich die wässerige Lösung eines basischen Farbstoffes, etwa Methylenblau, mit einem saurem Farbstoff, etwa Säurefuchsin, so erhält man eine dichte Fällung des neutralen Farbstoffes. Versetzt man diesen mit einem Überschuß von Säurefuchsin, so geht der Niederschlag teilweise wieder in Lösung und stellt somit die geeignete Lösung eines neutralen Farbstoffes dar.

Die Ursache dieser Erscheinung erfordert eine besondere Besprechung. Ehrlich stellt sie sich folgendermaßen vor. Versetzt man z. B. Methylviolett mit steigenden Mengen Salzsäure, so geht die Farbe von violett über grün nach gelb über. Beim Verdünnen der gelben Lösung mit Wasser geht die Farbe in umgekehrter Richtung zurück. Die Ursache dafür ist folgende. Das Methylviolett besitzt drei basische Gruppen, von denen in dem üblichen „Methylviolett" nur die eine mit HCl abgesättigt ist. Dieses monacide Salz ist violett. Durch Überschuß von Mineralsäuren (Essigsäure eignet sich nicht hierfür) bildet sich erst das grüne diacide, dann das gelbe triacide Salz; durch Verdünnen mit Wasser tritt Schritt für Schritt wieder eine Hydrolyse des triaciden und des diaciden Salzes ein. So meint nun auch Ehrlich, daß beim Versetzen des Methylenblau mit Säurefuchsin sich — ebenso wie bei Säureüberschuß — erst

[9]) Zeitschr. f. klin. Med. **I**, 553; **1880** [*5*].
[10]) Charité-Annalen **XII**, 288; **1887** [*45*].

das monacide Salz, durch einen Überschuß des sauren Farbstoffes sich dann das diacide und triacide säurefuchsinsaure Methylenblau bilde, welch letztere wasserlöslich seien. Aus dieser Auffassung heraus bezeichnete Ehrlich das später von ihm kombinierte Gemisch des basischen Farbstoffes Methylgrün mit einem Überschuß von sauren Farbstoffen (als welche er eine Kombination von Säurefuchsin und Orange G benutzte, um nochmals innerhalb der acidophilen Gewebselemente Differenzierungen zu erhalten) einfach als „Triacid".

Jedenfalls gelingt es, in vielen Farbstoffkombinationen das Ausfallen des neutralen Farbstoffes durch einen Überschuß des sauren Farbstoffes zu verhindern.

Ehrlich entdeckte nun, daß die durch Erhitzen auf 120° fixierten Blutpräparate eine außerordentliche Menge von Leukocyten zeigten, die bisher als ungekörnt gelten mußten, aber jetzt mit zahlreichen, äußerst feinen, staubförmigen, neutrophilen (ε) Körnchen gefüllt erscheinen. Und zwar waren es diejenigen Leukocyten, welche die bekannte polymorphe Kernfigur zeigten. In dieser ersten Mitteilung ist nun Ehrlich noch der Ansicht, daß diese Zellen aus einkernigen, neutrophilen Zellen im Blute selbst sich entwickelten, während er später bekanntlich diese Auffassung dahin revidierte, daß er die Mutterzellen der neutrophilen Zellen ins Knochenmark verlegte (l. c. 7). Aber jetzt beobachtete Ehrlich, daß bei den akuten Leukocytosen fast ausschließlich diese neutrophilen Zellen vermehrt sind, und daß Eiter, insbesondere gonorrhoischer Eiter, fast ausschließlich aus ihnen bestand.

Am meisten eingebürgert hat sich von den Ehrlichschen neutralen Farbstoffkombinationen das von ihm sogenannte Triacid.

Die Vorschrift für diese Lösung ist folgende: 125 ccm einer gesättigten wässerigen Lösung von Orange G werden mit einer gesättigten wässerigen, 20% Alkohol enthaltenden Lösung von Säurefuchsin und mit 75 ccm absolutem Alkohol gemischt, und dann allmählich unter Umschütteln mit 125 ccm einer gesättigten wässerigen Lösung von Methylgrün versetzt. Es ist streng darauf zu achten, daß die Stammlösung durch mehrtägiges Stehen mit einem großen Überschuß des festen Farbstoffes wirklich gesättigt ist. In der zusammengesetzten Triacidlösung bilden sich anfänglich Niederschläge, die man einige Tage absetzen lassen muß. Zur Färbung entnimmt man die Farbstofflösung mit einer Pipette.

In späterer Zeit gab Ehrlich[11]) noch eine Kombination von Eosin und Methylenblau als neutralen Farbstoff an. In rein wässeriger Lösung gelingt es nicht, diese beiden Farbstoffe so zu kombinieren, daß sie die neutrophilen Granula färben. Auch die alkoholische Lösung des eosinsauren

[11]) Vgl. **Ehrlich u. A. Lazarus**, Die Anämie, Nothnagels Handbuch **VIII**, **1898** [*187*].

Methylenblau erfüllt diese Forderung nicht. Dagegen fand Ehrlich, daß das Methylal ein geeignetes Lösungsmittel ist, welches den gleichen Effekt hervorbringt wie die Triacidlösung. Es hat sogar vor diesem noch den Vorzug, daß die Kernfärbung intensiver ausfällt. In Verfolgung dieser Ideen von Ehrlich wurde dann später von Jenner, sowie von May und Grünwald eine Lösung des eosinsauren Methylenblau in Methylalkohol beschrieben, die sich durch große Haltbarkeit auszeichnet.

Die Darstellung der neutrophilen Granula hat einen großen Einfluß auf die Kenntnis der Histogenese der Blutkörperchen gehabt. Mit ihrer Hilfe war es Ehrlich leicht, den Beweis zu führen, daß die Vorstufen der gewöhnlichen polynukleären Leukocyten im Knochenmark zu finden sind, und zwar in Form der großen einkernigen Myelocyten. Der Beweis gelang deshalb so leicht, weil diese Zellen dieselben Granula haben wie die reifen polynukleären Leukocyten. Auch die Unterscheidung der myelogenen und der lymphogenen Leukämie gelang mit ihrer Hilfe leicht, ebenso der Nachweis, daß jene häufigste Form der Leukämie trotz ihrer so sehr sinnfälligen Schwellung der Milz ihren Ursprung nicht in der Milz, sondern im Knochenmark hat[12]). Doch wird hierüber im folgenden Abschnitt von A. Lazarus ausführlicher berichtet werden.

### b) Die spezifische Färbung der Tuberkelbazillen.

Fast die größte praktische Bedeutung der elektiven Färbungen Ehrlichs hat seine Methode der Färbung der Tuberkelbazillen gefunden. Die ursprüngliche Methode von Robert Koch war zeitraubend und hatte bei weitem nicht die guten Effekte wie die gleich nach der Kochschen Entdeckung von Ehrlich[13])[14]) gefundene spezifische Färbung der Tuberkelbazillen. Alle anderen, später gebräuchlich gewordenen Färbungen derselben beruhen auf dem Prinzip von Ehrlich und sind eigentlich kaum nennenswerte Modifikationen. Die Methode beruht auf der Erkenntnis, daß die Tuberkelbazillen, welche sich wie alle Bakterien mit basischen Farbstoffen färben, die Farbe sehr schwer annehmen, aber auch sehr schwer wieder abgeben. Aus dieser Überlegung färbte Ehrlich die Bazillen mit besonders kräftigen basischen Farbstoffen, deren Färbevermögen noch durch gewisse Zusätze erhöht wurde, und setzte sie dann der entfärbenden Wirkung sehr starker Extraktionsmittel aus. Dabei be-

---

[12]) Verein f. innere Medizin, 5. Nov. 1883 (Deutsche med. Wochenschr., H. 46, S. 670, **1883**), [*25*].

[13]) Deutsche med. Wochenschr., H. 19, S. 269, **1882** [*14*].

[14]) Charité-Annalen **XI**, 123; **1886** [*38*].

halten die Tuberkelbazillen ihre Farbe, während alle anderen Bakterien und Gewebselemente sie wieder abgeben. Es folgt dann die bekannte Kontrastfärbung der anderen Gewebselemente mit einer gut kontrastierenden Gegenfarbe, welche bei kurzer Einwirkung alles andere färbt und die Tuberkelbazillen unbeeinflußt läßt.

Als geeignetsten Farbstoff benutzte Ehrlich hauptsächlich die sehr farbkräftigen Triphenylmethanfarbstoffe; er nahm meist Gentianaviolett oder Fuchsin. Als ein Mittel, um das Färbevermögen dieser Farbstoffe zu erhöhen, fand er das Anilin, welches zu diesem Zweck noch weiterhin eine ausgedehnte Anwendung (z. B. bei der Gramschen Methode) fand. Zweifellos ist das Anilin viel wirksamer als das heute meist benutzte, im übrigen auch von Ehrlich zuerst als wirksam erkannte Phenol, wenn auch das letztere den Vorzug größerer Haltbarkeit der Farbmischung hat, ohne die Wirksamkeit in praktisch unangenehm fühlbarer Weise herabzusetzen. Jedenfalls sind alle Modifikationen dieser Farbmischung nur ganz unwesentliche Abänderungen der Ehrlichschen Vorschrift und beruhen alle auf demselben Prinzip.

Als Extraktionsmittel verwandte Ehrlich starke Mineralsäuren, meist Salpetersäure. Gerade diese Säurefestigkeit der Tuberkelbazillen ist die charakteristische Reaktion derselben. Von Interesse ist der feinere Mechanismus dieser Säurewirkung, wie er von Ehrlich festgestellt wurde. Fuchsin wird bekanntlich durch Mineralsäuren gelbbraun gefärbt. Wenn man nun die mit Fuchsin rot gefärbten Tuberkelbazillen in Salzsäure unter dem Mikroskop untersucht, so sind sie in ihrem Inneren gelb. Die Säure ist also in die Bazillen, wenn auch langsam, eingedrungen. Bringt man die Präparate jetzt in Wasser, so diffundiert die Salzsäure wieder aus den Bazillen heraus, und sie werden rot. Während also die Bazillen für das Fuchsin sehr schwer durchgängig sind, passiert das kleinere Molekül der Mineralsäure frei aus und ein.

Von dieser ursprünglichen Methode Ehrlichs[15]) ist prinzipiell nur soviel abgeändert worden, daß man meist außer der Säure auch Alkohol zur Entfärbung benutzt, weil sich herausgestellt hat, daß die Gruppe der sog. Smegmabazillen auch säurefest ist, ihren Farbstoff aber abgiebt, wenn man gleichzeitig mit Alkohol extrahiert. Die schließlich angewendete Kontrastfarbe ist je nach der Wahl des ersten Farbstoffes nach dem bis heute befolgten Vorschlag Ehrlich's entweder Methylenblau oder Bismarckbraun.

Durch den von Aronson erbrachten Nachweis, daß die spezifische Farbreaktion der Tuberkelbazillen an eine bestimmte Substanz, das Tuber-

[15]) Vgl. auch Ehrlich, Deutsche med. Wochenschr., H. 50; **1913** [*152*].

kelwachs, gebunden ist, wird eine leichte, unbedeutende Modifikation der Ehrlichschen Annahme von der Hülle des Tuberkelbazillus erforderlich; denn es zeigte sich, daß das extrahierte reine Wachs auf dem Objektträger die spezifische Farbreaktion der Tuberkelbazillen zeigt. Man könnte daher die Ehrlichsche Hülle etwa mit der Oberfläche dieser Wachsschicht identifizieren und das Wachs selbst mit der spezifisch färbbaren Substanz.

Übrigens erkannte Ehrlich auch sogleich, daß die Eigenschaft der Undurchgängigkeit für die gewöhnlichen wässerigen Farbstofflösungen nicht allen Tuberkelbazillen gleichmäßig zukommt, und deutete in richtiger Weise, daß die jüngeren Formen der Bazillen die durchlässigeren seien.

### c) Vitale Färbungen.

Alle bisher beschriebenen Färbungen werden am abgetöteten, fixierten Objekt vorgenommen. Die Kern- und Protoplasmafärbungen kommen überhaupt erst nach der Abtötung des Gewebes in der beschriebenen Art zustande, und von den Granulafärbungen gibt es zwar einige, die man ebensogut an der lebenden Zelle ausführen kann, etwa die Mastzellenfärbung mit basischen Farbstoffen (die dann natürlich nicht mit Säure oder Alkohol vermischt sein dürfen), aber es besteht dann eben kein Unterschied im Färbungseffekt gegenüber dem abgetöteten Gewebe; wohl ein Zeichen dafür, daß das färbbare Substrat ein relativ einfacher Körper ist, der bei der Abtötung der Zelle sich nicht wesentlich ändert. Nun aber treten wir in das Gebiet der eigentlichen vitalen Färbungen ein. Das sind Färbungen, die nur in der lebenden Zelle, nicht in der abgetöteten eintreten, und die das Weiterleben der Zelle wenigstens nicht augenblicklich, mitunter gar nicht, vernichten. Diese Färbungen gab es, wenn man von der nicht ganz mit den anderen vergleichbaren Krappfärbung des lebenden wachsenden Knochens absieht, vor Ehrlich überhaupt noch nicht. Auch waren die dazu geeigneten Farbstoffe vor ihm nicht bekannt und wären, auch da sie chemisch vorhanden waren, ohne Ehrlich noch lange nicht als vitale Farbstoffe erkannt worden. Unter den äußerst zahlreichen organischen Farbstoffen gibt es nämlich nur ganz wenige, die dazu geeignet sind, und der Zusammenhang der chemischen Konstitution der Farbstoffe mit ihrer vital färbenden Wirkung ist völlig unbekannt, so daß es des unermüdlichen Probierens und eines großen Spürsinnes bedurfte, um die richtigen herauszufinden. Nur eines steht durch die Untersuchungen von Ehrlich fest: die mit spezifischen Affinitäten ausgestatteten Vitalfarbstoffe sind überwiegend basische Farbstoffe. Ebenso wie Ehrlich früher nachgewiesen hatte, daß die pharmakologischen Eigenschaften der organischen Basen durch die Einführung einer

Sulfosäuregruppe völlig vernichtet werden (wie aus dem sehr giftigen Anilin die ungiftige Sulfanilsäure wird), ebenso finden sich brauchbare Vitalfarbstoffe fast nur unter den basischen Farbstoffen. Wir werden jedoch auch Ausnahmen kennen lernen.

Die Vitalfärbung ist in ihrem ganzen Wesen außerordentlich verschieden von der Färbung des fixierten Objektes. Zunächst betrifft die Vitalfärbung ganz andere Gewebselemente als die postmortale Färbung. Die Kerne, welche sich durch so große Färbbarkeit nach der Abtötung auszeichnen, sind im lebenden Zustande ganz unfärbbar. Eine Ausnahme scheinen nur gewisse Kerne von Protozoen zu machen. Abgesehen hiervon kann man das feststehende Gesetz aufstellen, daß ein basischer Farbstoff einen Zellkern erst nach dem Tode der Zelle färbt. Läßt man ganz verdünnte Lösungen relativ ungiftiger basischer Farbstoffe, welche an und für sich die Zelle nicht so leicht töten, wie Methylenblau oder Neutralrot, auf lebende Zellen einwirken, so tritt eine Kernfärbung immer erst dann ein, wenn die Zeichen des Absterbens vorangegangen sind, die man in beweglichen Zellen (Flimmerzellen, amöboid bewegliche Leukocyten) an dem Aufhören der Beweglichkeit erkennt. Starke oder giftige Farbstofflösungen töten diese Zellen gleichzeitig mit der eintretenden Kernfärbung. Sehr verdünnte, ungiftige Farbstoffe kann man daher geradezu als Reagens auf das Leben der Zellen betrachten. Ist der angewendete Farbstoff leicht reduzierbar, wie Methylenblau, so tritt außerdem unter dem Deckglas nach Luftabschluß allmählich Reduktion und Entfärbung ein, die nach Luftzufuhr rückgängig gemacht wird.

Wir beginnen nun eine kurze Beschreibung der vitalen Farbstoffe und ihrer Wirkungen.

### 1. Das Methylenblau.

Von allen spezifischen Farbstoffaffinitäten, die Ehrlich gefunden hat, ist die des von Ehrlich in die histologische Technik eingeführten Methylenblau zum Nervensystem wohl die überraschendste gewesen. Ehrlich[16]) [17]) [18]) beschrieb im Jahre 1885, daß Methylenblau, in genügender Menge in die Blutbahn eines lebenden Tieres injiziert, die Fähigkeit besitzt, die Nervenelemente, Ganglienzellen mitsamt ihren Fortsätzen in den feinsten Verzweigungen und die Nervenendigungen, intensiv zu färben. Diese Entdeckung ist für das Studium der feineren Anatomie des Nervensystems in ausgedehnter Weise, außerhalb des Ehrlichschen

[16]) Centr. f. d. med. Wissenschaft **XXIII**, 113; **1885** [*31*].
[17]) Deutsche med. Wochenschr., H. 4; **1886** [*36*]
[18]) Biol. Centrbl., **VI**, 214; **1887** [*42*].

Laboratoriums zuerst von Dogiel, ausgenutzt worden, und diese Methode der Darstellung der Nervenelemente stellt eine bisweilen ebenbürtige, bisweilen überlegene Methode in Vergleich zu den Versilberungsmethoden dar. Es ist nicht die Absicht dieser Schrift, die rein anatomischen Früchte der Methode, sondern nur das Prinzip der Methode selbst zu schildern. Die erste ausführliche Darstellung der mit der Methode erhaltenen Resultate ist die von H. Aronson[19]).

Bei der Frage, welche Atomgruppierung im Methylenblau ihm diese besondere Affinität verleihe, kam Ehrlich zu dem Resultat, daß außer dem Methylenblau auch einige andere Farbstoffe der Thiazinreihe diese Eigenschaft besitzen, während sie den übrigen Farbstoffklassen (bis auf eine später zu erwähnende kleine Ausnahme) abgeht. Es ist offenbar der Schwefelgehalt in seiner für die Thiazine eigentümlichen Bindungsform notwendig. Aber keiner der verwandten Farbstoffe reicht in seinem Effekt annähernd an das Methylenblau heran. Ehrlich benutzte als Versuchstiere hauptsächlich Frösche, denen er eine Lösung von 1 g Methylenblau in 300—400 ccm 0,6% NaCl-Lösung in die Vena cardinalis langsam infundierte. Es färben sich dann im lebenden Tiere die Nervenelemente in ausgedehntem Maße, aber nicht alle gleichmäßig; es färben sich sämtliche sensiblen Fasern und die Nervenendigungen in gewissen Muskeln (denselben, die auch bei den Alizarinblauversuchen in dem Kapitel „Sauerstoffbedürfnis" hervorgehoben wurden). Man erkennt die Färbung, wenn man die frisch herausgenommenen Organstückchen zerquetscht und sofort mikroskopiert. Nach dem Abschluß der Luft unter dem Deckglase tritt bald eine Verblassung durch Reduktion ein, die nach erneuter Luftzufuhr aber restituiert wird. Für die histologische Verwendung wurden dann von Dogiel und von Bethe Methoden angegeben, um die Färbung zu konservieren, was aber hier nicht näher besprochen zu werden braucht.

Die Ursache, warum die Nerven sich nicht alle gleichmäßig mit Methylenblau färben, sieht Ehrlich darin, daß es einer hohen Sauerstoffsättigung derselben bedarf, um ihre Färbung zu ermöglichen, und daß sauerstoffarme Nervenelemente den Farbstoff nicht annehmen.

Bei einem Tier, welches nach der Methylenblauinjektion gestorben oder getötet worden ist, verschwindet die Methylenblaufärbung durch die Sauerstoffgier der Zellen schnell infolge der Bildung von farblosem Leukomethylenblau, das aber an der Luft bald wieder oxydiert wird.

Das Methylenblau färbt vital allerdings auch noch einige andere histologische Elemente, nämlich manche Zellgranula. O. Schultze be-

[19]) I.-D. Berlin **1886** [*244*].

schrieb eine vitale Färbung der Granula in den Epithelzellen des Darmes bei der Verfütterung, L. Michaelis[20]) die Färbung der Granula der Leberzelle. Injiziert man z. B. einem Meerschweinchen Methylenblau in eine Mesenterialvene, so färbt sich die Leber intensiv blau, und jede Leberzelle zeigt eine blaue Färbung der Granula, welche die Zellen dicht erfüllen und auch ohne Färbung in der frischen Zelle sichtbar sind.

### 2. Das Neutralrot.

Das Neutralrot, ein von O. N. Witt dargestellter basischer Farbstoff, zeichnet sich zunächst durch seine ganz besondere Ungiftigkeit aus. Tiere, die mit Neutralrot während des Lebens gefärbt sind, leben ohne Störung weiter; Kaulquappen leben unbehindert in dünnen Neutralrotlösungen. Ehrlich[21]) fand nun, daß das Neutralrot auch in verdünntesten Lösungen eine ganz besondere Affinität zu vielen Zellgranula hat, die teilweise auf kaum eine andere Weise zur Anschauung gebracht werden können. Die Nervenelemente färbt es gar nicht; es gibt überhaupt nur wenig Gebilde, die vital gemeinschaftlich von Methylenblau und Neutralrot gefärbt werden.

Injiziert man einer Maus etwa 1 ccm einer gesättigten Neutralrotlösung, so färben sich die Schleimhäute bald rot, und beim Mikroskopieren der frischen zerzupften Organe findet man eine prachtvolle Färbung von Zellkörnchen in vielen Zellarten; besonders schön zeigen sich die Endothelien der serösen Häute, welche einen dichten Kranz von roten Körnchen um den Kern herum aufweisen; in den Lungenalveolarepithelien ist bei einem Teil der Zellen eine dichte Granulafärbung aufgetreten. Die Nierenzellen der gewundenen Kanälchen sind mit reihenweise angeordneten Körnchen dicht erfüllt, welche in den verschiedenen Abschnitten der Niere, wohl je nach dem funktionellen Zustand, bald gröber, bald feiner sind. Nirgends ist, solange die Zellen am Leben sind, irgendeine Kernfärbung vorhanden. Da das Neutralrot nicht so leicht reduzierbar ist, halten sich diese Färbungen nach Luftabschluß meist besser als die Methylenblaufärbungen.

Der Farbstoff ist recht ungiftig; viele Tiere vertragen mehrere Tage lang tägliche Injektionen größerer Mengen der gesättigten Lösung des Farbstoffes, ehe sie eingehen. Wassertiere, wie Kaulquappen, können in einer Neutralrotlösung von 1:100000 dauernd ohne Schaden leben und zeigen die Effekte der vitalen Färbung dabei aufs Schönste.

[20]) Arch. f. mikrosk. Anat. **XV**, 558; **1900** [*440*].

[21]) Verein f. innere Med., 18. XII. **1893**, Berl. klin. Wochenschr., H. 21; **1894**; — Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikrosk. **XI**, 250; **1894** [*56*].

Wegen der besonderen Auffälligkeit des spezifischen Effektes sei noch die vitale Färbung erwähnt, die das Neutralrot bei der Leberzelle hervorruft. Die mit Methylenblau so leicht färbbaren Körnchen lassen sich mit Neutralrot absolut nicht darstellen, dafür aber ein Kranz von allerfeinsten Körnchen, der in der peripheren Zone der Leberzelle sitzt und sonst auf keine Weise darstellbar ist (vgl. hierzu Michaelis l. c.[20]).

### 3. Das Diazingrün.

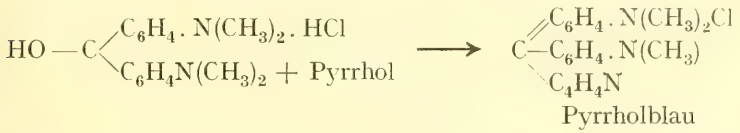
Auf Veranlassung von Ehrlich (vgl. hierzu auch [22]) wurde das Diazingrün (Kalle & Co.) oder Janusgrün (Höchster Farbw.) von L. Michaelis (l. c. [20]) einer Prüfung auf seine vitalfärbenden Eigenschaften untersucht. Der Farbstoff entsteht, wenn Diäthylsafranin diazotiert und Dimethylanilin daran gekuppelt wird. Es ist daher ein Farbstoff, der gleichzeitig zwei chromophore Gruppen enthält; er ist gleichzeitig ein Safranin und ein Azofarbstoff. Er wird sehr leicht reduziert, und zwar in zwei Stufen; erst wird die Azogruppe reduziert, was zu einer irreversiblen Sprengung des Moleküls führt und das rote Diäthylsafranin erzeugt; dann wird auch dieses in das farblose Leukoprodukt verwandelt. Bei der Verküpung an der Luft stellt sich nur das rote Safranin wieder her. Da letzteres keine besonders ausgeprägten vitalen Affinitäten hat, so ist die vitale Diazingrünfärbung mit der eingetretenen Reduktion dauernd vernichtet und kann daher durch Verküpung an der Luft nicht wiederhergestellt werden. Die vitale Färbung mit diesem Farbstoff gelingt deshalb am leichtesten, wenn man überlebende Organstückchen, fein zerzupft, in einer physiologischen NaCl-Lösung in flachen Schalen, bei genügender Luftzufuhr, liegen läßt, die den Farbstoff 1:30000 enthält. Auf diese Weise erzielt man erstens eine Nervenfärbung, wie beim Methylenblau, wenn auch bei weitem nicht so vollständig. Zweitens aber hat der Farbstoff eine ganz einzig dastehende Affinität zu gewissen körnigen und fädigen Einschlüssen in den Zellen mancher Speicheldrüsen (Pankreas, Parotis, z. T. auch Submaxillaris). Der Anblick dieser Gebilde ist so eigenartig, daß man versucht wäre, sie für Kunstprodukte zu halten, wenn nicht zufällig ganz andere Methode (nach Heidenhain, nach Altmann) die Existenz derselben Gebilde auch demonstrieren würden. Es liegt hier ein Fall von ganz besonders einseitiger elektiver Färbung vor.

### 4. Das Pyrrholblau.

Das Pyrrholblau ist ein Farbstoff, der von Ehrlich[23]) selbst zuerst

[22]) Verein f. innere Med., **1898**; v. Leyden-Festschrift **I**; **1902** [*76*].
[23]) Ber. d. deutsch. Chem. Ges. **XLII**, 17; **1909** [*108*].

dargestellt und auf seine Veranlassung 1909 von Goldmann[24]) auf seine vital färbenden Eigenschaften untersucht wurde. Es entsteht durch Kondensation von Tetramethyldiaminobenzhydrol und Pyrrhol:




Pyrrholblau

Obwohl es seiner Konstitution nach zu den basischen Farbstoffen gehört, hat es nicht die Wirkungen eines basischen Farbstoffs, weil der Pyrrholrest eher schwach saure Eigenschaften zeigt. Insofern liegt hier eine Abweichung gegen die Regel vor, als ein nicht deutlich basischer Farbstoff vital färbende Eigenschaften besitzt. Diese Eigenschaften sind allerdings ganz anderer Natur als bei den übrigen Vitalfarbstoffen. Sie zeigen sich nur bei subkutaner Injektion. Intravenöse Injektionen der Lösung führen durch Niederschlagsbildung und Embolie sofort zum Tode. Bei der subkutanen Injektion, welche auch nach zahlreichen Wiederholungen von der Maus glatt vertragen wird, tritt eine Blaufärbung der Haut, der Schleimhäute und der inneren Organe auf, welche merkwürdigerweise überhaupt kaum oder erst in Monaten verschwindet, und welche sich z. B. durch Formol in völlig unveränderter Weise konservieren läßt, so daß Paraffinschnitte des vital gefärbten Organs genau den Befund der vitalen Färbung wiedergeben, eine ganz einzig dastehende Erscheinung.

Wenn man nun mikroskopisch untersucht, an welche Elemente die blaue Färbung gebunden ist, so findet man, daß überall immer nur eine bestimmte, dem Bindegewebe angehörige Zellart es ist, die den Farbstoff trägt. Außerhalb derselben findet er sich niemals vor. In diesen Zellen ist der Farbstoff in Form zahlreicher, unregelmäßig geformter, feiner Granula enthalten, die das Protoplasma ziemlich dicht erfüllen, den Kern aber immer frei lassen. Diese Zellen finden sich z. B. in mehreren Schichten auf der Oberfläche der serösen Häute, in dem interstitiellen Gewebe der Leber (als Kupfersche Sternzellen), des Hodens (interstitielle Zellen des Hodens), in bindegewebigen Elementen der Nebenniere, in Faszien, Muskeln, im subkutanen Bindegewebe. Von den Muskeln ist besonders das Herz und die Zunge an diesen Elementen reich; auch die Graafschen Follikel des Eierstocks, sowie die Riesenzellen der Placenta zeigen diese Granula. Der Uterus ist stets gefärbt, am stärksten aber in der Gravidität. Ferner war meist ein auffälliger Antagonismus zwischen Leber und Lunge zu be-

[24]) Beitr. z. klin. Chirurgie, **LXIV**, 192; **1909** [*351*].

obachten; war die eine stark gefärbt, so war die andere blaß, und vice versa. Die Zellen des strömenden Blutes zeigten niemals irgendwelche Färbung.

In der Placenta zeigen alle Elemente des Dotterektoderms Granulafärbung, die zu Riesenzellen und zu Begrenzungszellen der mütterlichen Bluträume werden, ferner das ganze Dotterentoderm; dagegen bleiben die Deciduazellen ungefärbt. Es ist besonders auffällig, daß an der Haut die Färbung besonders intensiv da auftritt, wo etwa vorher eine Läsion am Ohre angebracht war, oder bei mit Geschwulstteilen geimpften Tieren an der Stelle der Haut, unter der die Geschwulst sich zu entwickeln begann, oder im Uterus da, wo die Embryonen sich zu entwickeln beginnen. Alles in allem stellt demnach die „Pyrrholzelle" eine Zellform dar, die sich zwar überall findet, besonders zahlreich aber da, wo rege Stoffwechselvorgänge stattfinden. Diese Zelle ist offenbar befähigt, im Blut gelöste Substanzen zu binden und außerordentlich lange zu fixieren.

Auf die von Goldmann in stetem Konnex mit Ehrlich ausgeführten interessanten Untersuchungen (vgl. Beitr. z. klin. Chirurgie LXXII, 1911 u. LXXIV, 1912), welche die vitale Färbung zur Analyse einer Reihe von Problemen der Physiologie und Pathologie, insbesondere der Geschwulstforschung verwenden, sei hier nur hingewiesen.

Das Pyrrholblau ist nur ein, wenn auch der beste Vertreter einer Gruppe ähnlich wirkender Farbstoffe. Besonders gehören hierher das von Ehrlich hergestellte Trypanblau und Isaminblau. Ist auch die Wirkung dieser Körper (vgl. hierzu Goldmann, l. c. [24]) lange nicht so gut wie die des Pyrrholblaus, so sind sie doch deshalb bemerkenswert, weil sie entschieden saure Farbstoffe sind, im Gegensatz zu dem basischen Pyrrholblau, und dieses gemeinschaftliche Verhalten saurer und basischer Farbstoffe ist etwas besonders Erwähnenswertes.

Schließlich sei erwähnt, daß auch die biologischen Eigenschaften der trypanoziden Farbstoffe hierher gehören. Sie werden in einem späteren Kapitel genauer besprochen werden.

Verwiesen sei auch auf die aus dem Laboratorium Ehrlichs herrührende Arbeit von Andreew[25]), der bei der vitalen Färbung mit Sulforhodamin, einem rosaroten Farbstoff, in den Nieren und der Leber nicht nur rote, sondern auch blauviolette, also metachromatische Tinktionen beobachtete.

### Der Übergang der Vitalfarbstoffe auf den Fötus.[26])

Die Vitalfarbstoffe wurden von Ehrlichs Schüler Zaretzki dazu benutzt, um den Stoffaustausch zwischen Mutter und Fötus zu unter-

[25]) Virch. Arch. **CCIV**, 447; 1911 [*217*].

[26]) Vgl.: S. Zaretzki, Virch. Arch., **CCI**, 25; **1910** [*611*]

suchen. Zaretzki unterscheidet 3 Gruppen: 1. Trypanblau und Trypanrot, die sich in ihren Eigenschaften eng an das von Goldmann untersuchte Pyrrholblau anschließen, 2. Methylenblau, 3. Neutralrot.

Das Trypanblau, der mütterlichen Maus injiziert, geht nicht einmal in Spuren auf den Fötus über, dagegen findet sich das Fruchtwasser leicht blau. Das Filter für den Farbstoff wurde nun in überzeugender Weise in dem fötalen Epithel, welches die Placentarzotten überdeckt, gefunden. Diese Zellen sind aufs intensivste mit Farbstoffkörnchen angefüllt. Auch das Epithel der Eihäute (ebenfalls fötaler Herkunft) erwies sich als gefärbt, und als eine Sekretion von seiten desselben ist die schwache Blaufärbung des Fruchtwassers zu deuten.

Das Methylenblau wird, wie schon früher erwähnt wurde, durchaus nicht so hartnäckig von den Zellen fixiert; daher passiert bei dauernder Überladung mit Methylenblau ein sehr kleiner Teil desselben das physiologische Placentarfilter und ruft unbedeutende Färbungen in Niere und Leber des Fötus, z. T. in Form des Leukoproduktes hervor. Das ist aber eben als eine Schädigung des Filters zu deuten, und damit Hand in Hand geht eine starke Schädigung des Methylenblaus auf den Fötus: Frühgeburt, macerierte Früchte (bei der Maus).

Neutralrot passiert das Placentarfilter besonders in späteren Stadien der Gravidität etwas besser, aber immer noch recht unbedeutend. Dabei zeigen die genannten Epithelzellen der Placenta wieder Granulafärbung. Das Neutralrot schädigt aber die Entwicklung des Fötus sehr bedeutend. Die Erklärung ist dahin zu geben, daß das Neutralrot als solches im Fötus nicht giftig wirkt, daß es aber das Placentarfilter vergiftet und den physiologischen Stoffaustausch zwischen Mutter und Fötus verändert.

Weiter wurden 3 saure Farbstoffe, Fluoreszein, Eosin und Alkaliechtgrün untersucht. Diese drei sehr leicht diffusiblen und wenig giftigen Farbstoffe gehen ziemlich leicht durch das Placentarfilter auf den Fötus und werden auch wieder leicht ausgeschieden. So ergab die Methode der Vitalfärbung auch durchaus neue Aufschlüsse über den Ort und die Funktionsart des zwischen Mutter und Fötus eingeschalteten Filters.

4.

# Histologie und Klinik des Blutes.

Von

**Adolf Lazarus,**

Charlottenburg.

Die erste Arbeit, die Ehrlich überhaupt veröffentlicht hat, berichtet über die von ihm 1876 entdeckten „Mastzellen“[1]). Diesen Namen gab Ehrlich einer Zellart aus dem Bindegewebe der Wirbeltierreihe, die sich vor anderen Zellen durch ihr besonderes Verhalten gegenüber Anilinfarbstoffen auszeichnete. Durch die Anwendung dieser Farben gelang es Ehrlich, nachzuweisen, daß eine Zellart in ihrem Protoplasma grobe Körnchen, „Granula“, enthalte, die ausschließlich mit basischen Farbstoffen sich färbten, und zwar nicht genau in der Nuance der angewandten Farbe, sondern etwas abweichend davon, „metachromatisch“. Da das Vorkommen dieser Zellart ganz besonders reichlich an Stellen chronischer Entzündung, von Stauungen, in der Nachbarschaft von Neubildungen, regelmäßig festzustellen war, sah Ehrlich in ihnen „ein Attribut eines lokal gesteigerten Ernährungszustandes“ und gab ihnen die Bezeichnung „Mastzellen“[2]) (vgl. auch Westphal[3])).

Dem jugendlichen Forschergeist konnte es nicht genügen, eine, wenn auch höchst originale Einzelerscheinung aufgedeckt zu haben; ihn drängte es, ihren allgemeinen Gesetzen nachzuspüren und ihre Bedeutung für das Leben der Zelle überhaupt zu ermitteln. So wurde diese Arbeit über die Mastzellen der Ausgangspunkt für weitumfassende Zellstudien und, da Ehrlich als brauchbarstes Objekt hierzu das Blut wählte, der Grundstein für das Gebäude der modernen Bluthistologie.

[1]) Arch. f. mikrosk. Anatomie, **XIII**, 263, **1877** [*1*].

[2]) Verhandl. d. Phys. Gesellsch. zu Berlin, **1878—79**, Nr. 8; Arch. f. Anat. u. Physiol., Phys. Abt., S. 166, **1879** [*2*].

[3]) I.-D. Berlin **1880** [*605*].

Schon in den Arbeiten über die Mastzellen hatte Ehrlich sich selbst die Methode geschaffen, die er für seine weiteren Forschungen dann vervollkommnete[4]) (vgl. Schwarze[5])). Er nahm, wie er immer wieder dankbar erwähnt, die Untersuchungsart Robert Kochs im Deckglastrockenpräparat an, indem er sie für seine besonderen Zwecke unablässig zu verbessern trachtete. Die Methode Kochs für Untersuchungen der Bakterien besteht bekanntlich darin, daß das bakterienhaltige Substrat — Kulturen, Sputum, Eiter usw. — dem Deckglas in möglichst dünner Schicht angetrocknet und dann der Färbung unterzogen wird. Für die sehr viel empfindlicheren und schwieriger zu beurteilenden Gebilde aus dem Blut bedurfte dieses Vorgehen in vielen Punkten einer Verbesserung.

Zunächst war es nötig, den Blutstropfen so auszubreiten, daß die einzelnen Zellen sich abplatteten und nebeneinander, nicht an- und nicht übereinander lagen; je dünner die Schicht ist, um so schneller kann auch das Präparat vollkommen getrocknet und vor weiteren Veränderungen, wie der durch Stechapfelformen, Fibrinbildung usw., bewahrt werden.

Ehrlich ließ sich deshalb für diese Zwecke außerordentlich dünne Deckgläschen — 0,08 bis 0,1 mm Dicke — herstellen; diese wurden sorgfältigst gereinigt, und so wurde es möglich, daß die elastischen dünnen Glasplättchen sich dicht aneinander schmiegen konnten und zwischen ihnen nur ein Kapillarraum bestehen blieb, in welchem, wie zwischen planparallel geschliffenen Glasplatten, das Blut ohne jeden Druck und Zug nur unter dem Einfluß der Kapillarität sich in gleichmäßiger dünner Schicht ausbreitete. Um die Zellen, besonders die roten Blutscheiben, vor dem zerstörenden Einfluß des vom Finger aus sich niederschlagenden Wasserdunstes zu schützen, stellte Ehrlich seine Präparate stets so her, daß er die Deckgläser nicht mit dem Finger, sondern nur mit eigens dazu angefertigten Pinzetten faßte. Es sind diese kleinen Maßnahmen ein Beispiel dafür, daß Ehrlich bei aller Weite der Gesichtspunkte, von denen seine Arbeiten beherrscht sind, niemals verschmäht, sich mit der geringfügigsten Kleinarbeit des Laboratoriums zu befassen, und jeder, der gemeinsam mit ihm arbeiten durfte, kennt die Unzahl kleiner Handgriffe und „Kniffe", die er in seinem ungemein praktischen Sinn erdacht hat.

Da Ehrlich sich nunmehr die Aufgabe gestellt hatte, die Zellen bzw. ihre Granula nach ihren chemischen Qualitäten zu bestimmen, suchte er bei dem Fixationsprozeß jede Alteration durch chemische Einflüsse zu vermeiden und lediglich durch physikalische die Härtung zu erzielen. Er arbeitete zu diesem Zweck das Verfahren der Fixation durch Hitze aus, die ihm in ebenso einfacher wie genauer Weise mit Hilfe des

[4]) Verhandl. d. Physiol. Ges., Berlin, Nr. 20, **1878/79**; Arch. f. Anat. u. Phys., Phys. Abt., S. 571, **1879** [*3*].

[5]) I.-D. Berlin **1880** [*579*].

Kupferbleches, später des „Toluolkochers" gelang. Wurden die lufttrockenen Blutausstriche mit Hilfe dieser Apparate eine oder mehrere Stunden lang auf 120—130° C erhitzt, so wurden sowohl die protoplasmatischen Substanzen, als auch das Hämoglobin ihrer Löslichkeit und Quellbarkeit beraubt, ohne ihr elektives Färbungsvermögen einzubüßen. Verwiesen sei an dieser Stelle auf eine erst neuerdings aus Ehrlichs Laboratorium erschienene Arbeit von Szécsi[6]) über die Verwendung des Lucidols (Benzoylsuperoxyd) als Fixiermittel. Das Prinzip der Methode besteht in einer sehr energischen und außerordentlich raschen Oxydation des Gewebes unter der Vermeidung des wässerigen Mediums. Wie Ehrlich im weiteren in ausgedehnten planmäßigen Versuchen zur Auswahl der geeigneten Farbstoffe und Farbgemische kam, ist in dem Abschnitt dieses Werkes über Ehrlichs farbenanalytische Studien dargestellt. Hier sei nur auf das Gemisch eingegangen, dessen Anwendung bei der Untersuchung des Blutes zu den besten Resultaten geführt und in seiner einfachen Anwendung und polychromatischen Kombinationsfärbung am meisten Eingang in die Praxis gefunden hat: das ist die „Triacidlösung".

Während der Nachweis basophiler und acidophiler Granula in den Leukocyten, nachdem die Aufgabe einmal gestellt war, durch die Anwendung der entsprechenden Farbstoffe Ehrlich verhältnismäßig leicht gelungen war, machte ihm gerade die Färbung der am meisten verbreiteten Art von Körnchen, die im ungefärbten frischen Blut als äußerst feine Granulierung sichtbar waren, die größten Schwierigkeiten. Das erweckte in ihm die Vermutung, daß es sich um Gebilde handele, die nur der Tinktion mit neutralen Farben zugängig seien. Nun war die Anwendung neutraler Farbstoffe dadurch sehr erschwert, daß sie in Wasser schwer löslich sind. Erst als Ehrlich erkannte, daß bestimmte Reihen der neutralen Farbstoffe in einem Überschuß der sauren Farbstoffe leicht löslich sind, war auch ein Weg für die Herstellung geeigneter Gemische gegeben[7]).

Das bedeutsamste Ergebnis der nach diesen Gesichtspunkten angestellten zahlreichen Versuche war die Triacidlösung. Das Prinzip dieser Lösung ist folgendes: Zu der Lösung eines basischen Farbstoffes, des Methylgrün, wird tropfenweise eine Lösung des sauren Orange G hinzugesetzt. Es entsteht dabei zunächst eine grobe Fällung, die sich aber bei weiterem Zusatz des sauren Farbstoffes vollkommen löst. In dem so entstandenen Gemisch haben sich alle drei basischen Gruppen des Methylgrün mit dem sauren Farbstoff zu einer neutralen Substanz ver-

[6]) Deutsche med. Wochenschr., H. 33, **1913** [*594*].
[7]) Zeitschr. f. klin. Med., **I**, 553, **1880** [*5*].

bunden; daher die Bezeichnung „Triacid". Für die praktische Anwendung, bei der vor allem darauf zu achten ist, daß von Orange G nur soviel hinzugefügt wird, als zur Lösung des Niederschlags nötig ist, hat sich die Kombination dieses Gemisches mit einer zweiten sauren Farbe, dem Säurefuchsin, bewährt.

Aus einem solchen Farbstoffgemisch ziehen die verschiedenen Gewebselemente je nach ihrer chemischen Eigenart die einzelnen Bestandteile bzw. ihre Komponenten heran; beispielsweise färben sich im Blut die Kerne im reinen Ton des Methylgrün, die oxyphilen Granula, sowie die Erythrocyten entweder rein orange oder in einem Mischton der beiden sauren Farbstoffe an. Die feinkörnigen polynukleären Leukocyten lassen nunmehr ihre Granula durch den Mischton des basischen und der sauren Farbstoffe als neutrophile erkennen.

Ein Mangel des Triacidgemisches ist es, daß die Darstellung der Mastzellen mit seiner Hilfe nicht gelingt, und daß es auch in der Kernfärbung von anderen übertroffen wird. So ist diese Lösung heute in den Laboratorien zumeist durch andere, noch handlichere und wirklich panoptische verdrängt. Aber kein anderes Gemisch färbt mit solcher Schönheit die neutrophilen Granula, und für deren Studium ist die Triacidlösung auch heute noch unentbehrlich.

So schuf sich Ehrlich das Rüstzeug, mit Hilfe dessen er die Lehre vom Blut ganz erheblich umgestalten sollte (l. c. [4] u. [7]). Es liegt ja auf der Hand, daß diese Methode des gefärbten Trockenpräparates allen anderen bis dahin angewendeten morphologischen Methoden praktisch überlegen sein mußte; macht sie doch den Untersucher vollkommen unabhängig von der Gegenwart des Patienten und läßt ihn Zeit und Ort für seine Untersuchungen beliebig wählen; sie erlaubt jederzeit Wiederholungen der Untersuchung und die Demonstration der Befunde. Auch zu Zählungen lehrte Ehrlich das Trockenpräparat verwenden.

Er ließ Okularblenden (Zeiß und Leitz) anfertigen, die aus dem Gesichtsfeld kleinere und größere, in genauem geometrischen Verhältnis, z. B. 1:9, zueinander stehende Flächen ausschneiden; in dem kleinen Gesichtsfeld werden die roten, in dem großen die weißen Blutkörperchen gezählt, und so kann bei technisch zureichenden Präparaten das Verhältnis der Erythrocyten zu den Leukocyten mit großer Genauigkeit bestimmt werden.

Ferner sind auf keine Weise bequemer und sicherer die wichtigen Verhältniszahlen der einzelnen Formen der Leukocyten zueinander zu gewinnen, als am gefärbten Trockenpräparat.

Virchow hatte das berühmte Wort gesprochen: „Ich vindiziere für die weißen Blutkörperchen eine Stelle in der Pathologie" und ist diesem Satz gerecht geworden durch seine Forschungen über die Leukocytose, wie

durch die Entdeckung der Leukämien; Virchow hat auch zuerst weitschauend die Forderung aufgestellt, die im Blut vorhandenen farblosen Körperchen in zwei voneinander ganz verschiedene Gruppen zu sondern („dualistische Lehre"). Sein hervorragender Schüler Cohnheim hat durch die Aufklärung der Entzündungs- und Eiterungsvorgänge dieses Werk seines Meisters fortgesetzt; Max Schultze, Wharton Jones und andere Forscher stellten morphologisch verschiedene Gruppen der Leukocyten auf. Aber die Methoden dieser Forscher waren teils viel zu schwierig, teils zu unsicher in den Ergebnissen, als daß sie festen Bestand gewinnen oder gar für die Praktiker nutzbar gemacht werden konnten. Nicht deutlicher kann die Unzulänglichkeit der Methoden nach unseren heutigen Begriffen gekennzeichnet werden, als durch die Tatsache, daß selbst Virchow in der Leukocytose eine Vermehrung der Lymphzellen sah. Wie sollten da gar die Kliniker imstande sein, eine morphologisch und funktionell begründete Einteilung der Blutzellen zur Grundlage ihrer Beobachtungen zu machen!

Das wurde mit einem Schlage anders, als Ehrlich seine in der Anwendung ebenso einfachen, wie in ihrem Ergebnis weittragenden Methoden und Untersuchungen veröffentlichte. Von dieser Zeit her rührt, wie eine Durchmusterung der Literatur lehrt, das große Interesse und die rege Beteiligung, auch der Klinik, an der morphologischen und biologischen Hämatologie.

Um nun einen Überblick über das von Ehrlich auf dem Gebiet der Histologie und Klinik des Blutes Geschaffene zu gewinnen, werden wir zweckmäßig von seiner ersten Entdeckung, der der Mastzellen, ausgehen. Schon in seiner oben zitierten Erstlingsarbeit (l. c. [1]) gibt Ehrlich seiner Anschauung Ausdruck, daß die Granula der Leukocyten biologisch bedeutsame Gebilde seien, und er fühlte sich zu diesem Schluß aus verschiedenen Gründen berechtigt (vgl. hierzu auch Ehrlichs Ausführungen „Zur Geschichte der Granula")[8]):

1. erkannte er ihr nicht etwa vereinzeltes, sondern gesetzmäßiges Vorkommen;

2. stellte er fest, daß sie sich regelmäßig von den übrigen Bestandteilen der Zelle durch ihr Verhalten gegenüber verschiedenen physikalischen und chemischen Einflüssen unterschieden;

3. war ihm von vornherein gerade aus seinen farbenanalytischen Untersuchungen besonders die vollkommene Spezifizität jeder einzelnen Granulaart klar, namentlich auch in dem Sinne, daß eine Zelle nie Träger

[8]) Farbenanalyt. Studien usw., S. 134, Berlin **1891** [*52*].

zweier verschiedenartiger Körnelungen ist, sondern immer nur Elemente derselben Gattung birgt.

Vorübergehend war Ehrlich geneigt, in den Körnelungen das Zentrum der eigentlichen spezifischen Zellfunktion zu sehen, bald aber kehrte er zu seiner von Anfang an betonten Auffassung zurück, daß die Zellgranula Produkte der Zelltätigkeit seien, bestimmt, entweder als Material für die Zelle zu dienen, oder als ein Sekret ausgestoßen zu werden und weitere uns noch unbekannte Aufgaben zu erfüllen.

Nach morphologischen, bzw. färberischen Merkmalen traf Ehrlich (l. c. [4]) seine Einteilung der Körnchen in $\alpha$- bis $\varepsilon$-Granula bzw. der durch sie charakterisierten Zellen, wie im einzelnen hier kurz skizziert sei:

1. Die $\alpha$-(eosinophilen) Granula zeichnen sich durch ihre Verwandtschaft zu sauren Farbstoffen aus, und zwar zu sämtlichen Körpern dieser Reihe. Abgesehen von dieser Charakteristik durch die Färbung können die Granula noch durch einige andere Eigenschaften erkannt werden. Sie sind in Alkohol vollkommen unlöslich, dagegen in Wasser oder Glyzerin löslich; sie werden durch Osmium nicht geschwärzt, Kennzeichen, die sie schon mit Sicherheit von den Fetten trennen lassen. Auch die von einigen Autoren ausgesprochene Vermutung, daß sie aus Hämoglobin bestehen, trifft nicht zu; denn nach Ehrlichs Versuchen finden sich neben einigen Übereinstimmungen beider Substanzen bezüglich des tinktoriellen Verhaltens sehr erhebliche Unterschiede (vgl. hierzu auch die Arbeit von Ascoli[9]) aus Ehrlichs Laboratorium). Auch zeigen sie in ihren Löslichkeitsverhältnissen und ihrem Widerstand gegen Hitze deutliche Unterschiede gegenüber den Albuminaten. Positive Angaben über die Natur der eosinophilen Granula zu machen, ist aber auch heute noch nicht mit Sicherheit möglich.

Bei sämtlichen von ihm untersuchten Tierarten, welche die Vertreter aller Wirbeltierklassen umfaßten, konnte Ehrlich die eosinophilen Zellen nachweisen, und zwar vorwiegend im Blut und Knochenmark, beim Frosch aber auch im gesamten interstitiellen Gewebe.

2. Die $\beta$-Granulation, die Ehrlich zuerst im Rippenmark des Kaninchens, später auch beim Meerschweinchen fand, ist der vorherigen Körnelung sehr ähnlich, vielleicht eine Vorstufe derselben. Sie steht weniger dicht, ist feiner, von größerem Wassergehalt, und unterscheidet sich vor allem dadurch von den $\alpha$-Granulationen, daß sie amphophil ist, d. h. nicht nur in sauren, sondern auch in basischen Farbstoffen sich färbt.

---

[9]) Folia haematologica, **I**, 683, **1904** [*246*].

3. Die $\gamma$-Granulation ist die erste von Ehrlich beschriebene Körnelung, die der Mastzellen, deren Charakterisierung am Beginn dieses Aufsatzes gegeben ist. Ihre Kennzeichen sind die basophilen Körner. Nach Ehrlichs Forschung finden sie sich auch mikrokristallinisch in schlanken Oktaedern. Auch sie lassen sich, wenn auch in wechselnder Menge bei allen untersuchten Tieren der Wirbeltierreihe nachweisen, und zwar außer im Blut und Bindegewebe noch in vielen parenchymatösen Organen, ferner in den Muskeln. Ganz besonders reich ist die Zunge der Fledermaus an dieser Zellart. Beim Menschen tritt überall da eine bedeutende Vermehrung von Mastzellen ein, wo eine lokale Ernährungsstörung längere Zeit besteht, z. B. bei chronischen Dermatosen.

4. Die $\delta$-Granulation, die ebenfalls eine basophile ist, aber durch das zarte feine Korn von den Mastzellen sich durchaus unterscheidet; sie findet sich in den mononukleären Zellen des menschlichen Blutes und ist als jugendliche Entwicklungsform der folgenden Granulation zu betrachten.

5. Die $\varepsilon$-Granulation, d. i. die neutrophile Körnung[10]), die wir in weitaus den meisten polynukleären Leukocyten des menschlichen Blutes und in denen des Affen antreffen. Sie ist für die genannten Tierklassen charakteristisch, sie bildet ihre „Spezialgranula", wie es z. B. die pseudoeosinophile Granulation für Meerschweinchen und Kaninchen ist (Kurloff[10a])). Ihre Färbbarkeit ist oben bei der Erwähnung der Triacidlösung besprochen. Die polynukleären Leukocyten bilden die Hauptmasse der weißen Blutzellen des Menschen (75% nach Ehrlich-Einhorn[10b])); als ihre Bildungsstätten haben wir das Knochenmark anzusehen, soweit sie sich nicht erst im strömenden Blut aus den großen mononukleären Leukocyten und Übergangsformen entwickeln. An sie knüpft sich im wesentlichen der Vorgang der physiologischen und pathologischen Leukocytose.

Dies ist in gedrängter Übersicht das System der Granulierung der Leukocyten, zu dessen Feststellung Ehrlich in umfangreichen Arbeiten gemeinsam mit seinen Schülern Kurloff, Einhorn, Westphal, Spilling, Schwarze gelangt ist. Hieraus erst entwickelte er seine Gruppierung der weißen Blutkörperchen des Menschen, die er nach zwei Kategorien, granulierte und nichtgranulierte, und in 6 Arten schied:

1. Die Lymphocyten, die nach Ehrlichs Forschung noch als völlig frei von Granulis anzusehen waren, und die eben dadurch sowie durch ihren Ursprung aus dem Lymphsystem, ferner durch ihre äußerst

[10]) Char.-Annal., **XII**, 288. **1887** [*45*].
[10a]) Wratsch, Nr. 23/24, **1889** [*396*]; vgl. auch: l. c. [12].
[10b]) I.-D., Berlin, **1884** [*344*].

geringe aktive Beweglichkeit streng von allen übrigen Formen zu scheiden sind;*)

2. Die großen mononukleären Leukocyten;

3. Die Übergangsformen;

4. Die polynukleären Leukocyten; (2—4 als eine ineinander übergehende Gruppe zusammengehörig).

5. Die eosinophilen Zellen;[11])

6. Die Mastzellen.

Außer diesen regelmäßigen Bestandteilen des normalen menschlichen Blutes beschrieb Ehrlich noch einige Zellarten, die er in Krankheitszuständen fand:

1. Die neutrophilen Myelocyten, das sind bald größere, bald kleinere mononukleäre Leukocyten mit neutrophiler Granulierung. Ehrlich nahm ursprünglich an, daß sie nur bei myelogener Leukämie zu finden sind, während sich später herausstellte, daß sie, wenn auch in geringerer Zahl, auch bei sonstigen Reizungszuständen des Knochenmarkes im Blut auftreten.

2. Kleine neutrophile Pseudolymphocyten, die durch ihre geringe Größe, den relativ geringen Anteil des Protoplasmas an der Gesamtzelle und durch die starke Färbbarkeit des Kernes von den Myelocyten getrennt werden müssen, mit denen sie sonst große Ähnlichkeit haben. Ehrlich sah in ihnen ein Teilungsprodukt der polynukleären neutrophilen Leukocyten, denen man außer im Blut auch in pleuritischen Exsudaten begegnet.[11a])

Indem Ehrlich die neue Morphologie des Blutes schuf, suchte er auch die Ursprungsorte der Blutzellen aufzufinden und gelangte auch hierin zu bedeutungsvollen Ergebnissen.[12]) Im Jahre 1888 hat Ehrlichs

*) Neuerdings berichtet Szécsi[10c]) aus dem Ehrlichschen Institut, daß die sog. Lymphocyten des Liquor cerebrospinalis positive Oxydasereaktion geben, und schließt daraus, daß sie keine eigentlichen Lymphocyten sind, sondern Vorstufen von myeloischen Zellen darstellen oder zum mindesten den Blutlymphocyten gegenüber biochemische Unterschiede aufweisen. Von Interesse ist auch die differentialdiagnostische Verwertbarkeit, welche nach Szécsi der Oxydasereaktion im Liquor (positiv bei Paralyse und Tabes, negativ bei Meningitis und Lues cerebri) zukommt.

[10c]) Deutsche med. Wochenschr., H. 52, **1913** [*595*].

[11]) Vgl. hierzu auch Ehrlich, Versammlung Deutscher Naturforscher u. Ärzte, Breslau **1904** [*87*].

[11a]) Charité-Annalen **VII**, 199, **1882** [*16*].

[12]) Vgl. Ehrlich und Lazarus, Die Anämie, Nothnagels Handbuch, **VIII**, **1898** II. Auflage, Wien (Hölder), **1909** [*187*].

Schüler Kurloff, l. c. [10a]) [12a]) diese Frage zum Teil experimentell durch Milzexstirpation beim Meerschweinchen zu lösen versucht. Es ergab sich daraus, daß für das Versuchstier die Milz kein lebenswichtiges Organ sei, daß ferner der Ausfall ihrer Funktion regelmäßig durch eine Hyperplasie der Lymphdrüsen, auch in einer Lymphämie sich ausprägend, gedeckt wird. Die Knochenmarkzellen zeigen zunächst keine Schwankungen. Nur im späteren Verlauf macht sich regelmäßig eine zum Teil recht erhebliche Eosinophilie bemerkbar. Die gelegentlich beim Menschen nach Exstirpation der gesamten Milz gemachten Beobachtungen stehen ganz im Einklang mit Kurloffs Versuchen. Es steht also fest, daß die Bedeutung der Milz für die Produktion der weißen Blutkörperchen nur sehr gering ist.

Es war nun nicht möglich, auch die Bedeutung der Lymphdrüsen und des Knochenmarkes auf eine gleich exakte experimentelle Art zu erforschen, aber unter Würdigung der klinisch festgestellten Tatsache führte Ehrlich den Beweis, daß Lymphzellen normalerweise ihren Ursprung lediglich in den Lymphdrüsen, die granulierten Leukocyten ausschließlich im Knochenmark haben. Aber Ehrlich ist es auch gewesen, der zuerst darauf hingewiesen hat, daß unter gewissen pathologischen Bedingungen dieses Gesetz durchbrochen wird; so hat er bei myelogener Leukämie die myeloide Umwandlung von Lymphdrüsen beschrieben und damit den Beweis geliefert, daß bei dieser Krankheit die sonst nur im Knochenmark gebildeten Blutzellen auch in anderen Bezirken des hämatopoetischen Systems erzeugt werden, ebenso wie nach E. Neumanns Forschung bei der lymphatischen Leukämie myeloides Gewebe durch lymphatisches verdrängt werden kann. Aus den morphologischen und physiologischen Eigenschaften, sowie aus der Besonderheit des Ursprungs leitete Ehrlich in der Folge seine Anschauungen über den grundsätzlichen Unterschied zwischen Lymphocytose und Leukocytose ab. Er erklärte die Vermehrung der Lymphocyten im Blut für die Folge einer passiven Einschwemmung der gar nicht oder nur wenig aktiv beweglichen Lymphocyten in das Blut; ihm ist also die Lymphocytose der Ausdruck eines mechanischen Vorganges. Die Leukocytosen und zwar sowohl die Hyper- als die Hypoleukocytose sind dagegen aktive Äußerungen des Zelllebens, abhängig von den Gesetzen der positiven und negativen Chemotaxis und in letzter Reihe eine Funktion des Knochenmarks[13]).

Die beste Bewährung fand die Ehrlichsche Leukocytenlehre dadurch, daß sie die Grundlage abgeben konnte für eine wirklich rationelle Ein-

[12a]) Wratsch, Nr. 19, **1892** [*397*]; vgl. auch: l. c. [12].

[13]) Vgl. hierzu auch Ehrlich, XIII. Congrès international de médecine, Paris **1900** [*69*].

teilung der Leukämie[14])[15])[16])[16a]). Schon Virchow hatte erkannt, daß zwei verschiedene Formen der Leukämie angenommen werden müßten, aber es war weder ihm noch anderen Forschern gelungen, für eine wirklich brauchbare Trennung die entscheidenden Merkmale zu finden. So hatte denn die Klinik sich jahrzehntelang mit der Gruppierung nach äußerlich zwar hervorstechenden, aber doch unwesentlichen Symptomen abgefunden, und man unterschied, je nach der groben palpablen Organveränderung eine lymphatische, eine lienale oder myelogene Leukämie. Erst der von Ehrlich auf sichere Grundlage gestellte Dualismus in der Zellularhämatologie brachte die anatomischen und histologischen Erfahrungen in befriedigenden Einklang mit den klinischen Beobachtungen. Dem entstammt denn auch die ebenfalls zuerst von Ehrlich mit aller Schärfe angegebene Trennung der Leukämien in die beiden großen Gruppen der Lymphzellenleukämie = Lymphämie und der Knochenmarkzellen- bzw. myeloiden Leukämie.

Mit der Definition der verschiedenen Leukämieformen stellte Ehrlich auch die Diagnose der Krankheit auf eine sichere Grundlage. Es mußten bis dahin recht willkürliche Angaben der Lehrbücher in den Kauf genommen werden, welche die Hyperleukocytose von der Leukämie nach rein zahlenmäßigen Bestimmungen abgrenzten. Ehrlich lehrte nunmehr einmal die Lymphämie bzw. lymphatische Leukämie als eine von der Leukocytose durchaus verschiedene Erscheinung erkennen und ferner die Hyperleukocytose, als die Vermehrung einer einzelnen Zellart, streng von der myelogenen Leukämie trennen. So wurde jetzt eine extreme einseitige Vermehrung, etwa der polynukleären neutrophilen Elemente, mit ebenso großer Sicherheit als einfache Hyperleukocytose erkannt, wie die charakteristischen Veränderungen des Blutes die Diagnose der Leukämie ermöglichten, selbst wenn die zahlenmäßigen Abweichungen von der Norm durchaus nicht erheblich waren.

Ehrlich forderte für die Diagnose der myeloiden Leukämie folgende Punkte:

1. Das Auftreten der mononukleären gekörnten Leukocyten, der Myelocyten, und zwar sowohl der neutrophilen wie der eosinophilen,

2. die Beteiligung aller drei Typen granulierter Zellen, der neutrophilen, eosinophilen und basophilen an der Zellvermehrung,

---

[14]) Vgl. Spilling, I.-D. Berlin **1880** [*590*].

[15]) Vgl. Ehrlich-Lazarus-Pinkus, Nothnagels Handbuch, **VIII, 1901** [*189*].

[16]) Vgl. auch Ehrlich, Verein f. innere Med., Deutsche med. Wochenschr., H. 46, S. 670, **1883** [*25*].

[16a]) Vgl. Uhtemann, I.-D., Berlin 1887 [*600*].

3. das Auftreten atypischer Zellformen, z. B. Zwergformen verschiedener Arten weißer Blutkörperchen, ferner Kernteilungsfiguren,

4. das reichliche Auftreten kernhaltiger roter Blutkörperchen. —

Durch diese von Ehrlich aufgestellten Grundsätze für die Diagnose der myelogenen Leukämie gewann dieselbe derart an Sicherheit, daß unabhängig von jeder Kenntnis des klinischen Befundes lediglich aus dem gefärbten Bluttrockenpräparat die Diagnose möglich und statthaft wurde (vgl. hierzu auch die aus Ehrlichs Institut stammenden Arbeiten von Levaditi[17]) und Helly[18])).

---

Hatte Ehrlichs Tätigkeit der normalen und pathologischen Anatomie der weißen Blutzellen neue Wege gewiesen, so widmete er seine Arbeit auch der Erforschung der roten Blutscheiben, ihren Veränderungen und der mit ihnen im engsten Zusammenhang stehenden anämischen Zustände.

Aus dem Jahre 1880 stammen Ehrlichs erste Mitteilungen über dieses Arbeitsgebiet (vgl. hierzu [19]) [20]) [21]) [22]) [23]) [24])). Es behandelte zunächst die grundlegenden Fragen nach der besonderen Beschaffenheit der Grundsubstanz der Erythrocyten, des Stroma. Verschiedene Eigenschaften der roten Blutscheibe wiesen darauf hin, daß sie ein Protoplasma ganz spezifischer Art besitzen müsse; es empfiehlt sich daher, um es von vornherein von allen anderen Zellsubstanzen zu unterscheiden, ihm auch eine besondere Bezeichnung zu geben: „Discoplasma". Dem Discoplasma schreibt Ehrlich zunächst die Funktion zu, der roten Blutscheibe die eigenartige Form zu gewährleisten. Denn die besondere Form kommt nicht nur dem unversehrten Erythrocyten zu, sondern auch die bei der Poikilocytenbildung entstehenden kleineren und kleinsten Bruchteile nehmen sofort die eigenartige Dellung an, genau so wie ein Tropfen Öl, der zerfällt oder auseinander gerissen wird, immer wieder Bruchteile von Kugelform bildet. Dem Discoplasma ist ferner die unter gewissen

---

[17]) Journ. de Physiol. et de Pathol. générale, **1901** [*405*].

[18]) Berl. klin. Wochenschr., H. 38, **1905** [*369*].

[19]) Verhandlg. d. Ges. d. Char.-Ärzte, Berlin, 10. VI. u. 9. XII., Berl. klin. Wochenschr., H. 28, S. 405, **1880** [*7*] u. H. 3, S. 42, **1881** [*8*].

[20]) Charité-Annalen, **V**, 198, **1880** [*6*].

[21]) Charité-Annalen, **X**, 136, **1885** [*34*].

[22]) Ges. der. Charité-Ärzte, Berl. klin. Wochenschr., H. 1, **1889** [*47*].

[23]) XI. Kongr. f. inn. Medizin zu Leipzig, **1892** [*55*].

[24]) Vgl. auch Ehrlich u. Lazarus, Deutsche Klinik am Eingange des XX. Jahrhunderts, **III**, 81, **1901** [*188*].

Umständen sich zeigende aktive Beweglichkeit der roten Blutkörperchen zuzuschreiben; weiter die Fähigkeit, das ihm eingelagerte Protoplasma vor einer fehlerhaften Oxydation, der Umwandlung in Methämoglobin, zu bewahren, außerdem die schon von Bunge besonders hervorgehobene Fähigkeit, wie andere lebende Zellen unabhängig von den Gesetzen der Diffusion und Endosmose, fremde, in der Blutflüssigkeit treibende Substanzen aufzunehmen oder fernzuhalten. Schließlich nimmt Ehrlich an, daß auch die Bildung des Hämoglobins selbst innerhalb des roten Blutkörperchens eine Aufgabe des Discoplasma sei.

Wird die Funktion des Discoplasmas in bestimmter Weise beeinträchtigt, dann treten als Folge davon Veränderungen des Hämoglobin auf, die sich durch sein abnormes Verhalten gegenüber Farbstoffen erkennen lassen. Das ist vor allem die von Ehrlich entdeckte und als „anämische Degeneration", später von Gabritschewsky nicht ganz dem Wesen entsprechend als „polychromatophile Degeneration" bezeichnete Anomalie, die darin besteht, daß die roten Blutscheiben z. B. in einem Eosin-Hämatoxylingemisch nicht mehr im reinen Ton des Eosin, sondern mehr oder weniger auch mit dem Hämatoxylin sich anfärben, ein Zeichen, daß das rote Blutkörperchen irgendeine Veränderung seiner chemischen Zusammensetzung erfahren haben muß. Ehrlich hat diese Erscheinung auch experimentell erforscht, indem er sie bei hungernden Tieren in erheblichem Maße im Blute auftreten lassen konnte; auch bei akuten traumatischen Anämien sah er sie schon 24 Stunden nach dem Trauma im menschlichen Blute. Deshalb faßte er sie als eine Degenerationserscheinung auf, die er in enge Beziehungen mit der Weigertschen Koagulationsnekrose zu bringen geneigt war; später jedoch hat er diese Veränderungen, besonders nach den ausgezeichneten Studien seines Schülers C. S. Engel über das embryonale Blut, nicht mehr ausschließlich als eine Degeneration, sondern auch als eine gelegentliche Erscheinung der Regeneration anerkannt. Auf ihre klinische Bedeutung als ein häufiges Symptom anämischer Zustände haben wir weiter unten noch einmal zurückzukommen.

Auch eine andere durch geeignete Färbung erkennbare Veränderung der Erythrocyten hat Ehrlich zuerst beschrieben. Es finden sich zuweilen in schweren anämischen Zuständen bei Anwendung von Methylenblaufärbung dunkelblaue Körnchen im Stroma. Diese „methylenblaue Entartung" faßte Ehrlich als eine Funktionsstörung des Discoplasmas in der Neubildung des Hämoglobin auf. Unter dem vom Verfasser später gewählten Namen „punktierte Erythrocyten" haben diese so veränderten Blutscheiben bei vielen anämischen Zuständen, besonders bei der Bleianämie, ausführliche Erörterungen veranlaßt, und sie werden

ebenfalls wie die Polychromasie sowohl als degeneratives, wie als regeneratives Zeichen angesehen.

Von ganz besonderem Erfolg waren die Arbeiten Ehrlichs gekrönt, die sich mit den kernhaltigen roten Körperchen im strömenden Blute des Menschen beschäftigten. Als Ehrlich seine Studien hierüber begann, waren überhaupt nur zwei Fälle von progressiver perniziöser Anämie in der ganzen Literatur zu finden, bei denen der Nachweis kernhaltiger roter Blutkörperchen im Blut gelungen war. Ehrlich konnte nunmehr mit seiner Methode ein überaus reiches Beobachtungsmaterial sammeln und die Gesetze dieser Erscheinung ergründen.

Er wies zunächst nach, daß bei allen Formen schwerer Anämie, gleichgültig welcher Ursache, kernhaltige rote Blutkörperchen, Erythroblasten, im strömenden Blut auftreten. Er zeigte aber, daß unter diesen drei Arten zu unterscheiden seien: 1. die Normoblasten, in der Größe der normalen roten Blutscheiben; 2. Megaloblasten, die einen 2—4fachen Durchmesser aufweisen können; 3. die recht seltenen Mikro- und Poikiloblasten.

Die Normoblasten sind außer durch ihre Größe durch die maximale Verwandtschaft ihres Kernes bzw. ihrer Kerne, von denen 2—4 vorhanden sein können, zu den sog. Kernfarbstoffen charakterisiert; ihr Protoplasma ist fast immer von derselben Färbung wie das der normalen Erythrocyten. Ihre Umwandlung zu kernlosen Scheiben erfolgt — hier schließt sich Ehrlich auf Grund der klinischen Befunde durchaus den Erklärungen von Rindfleisch an — durch Austritt des Kernes aus der Zelle, die als Normocyt zurückbleibt. Nach Ehrlich kann der scheinbar freie Kern weiter neue Protoplasmamassen ansetzen, die sich mit Hämoglobin imbibieren und so einen neuen Normoblasten bilden und dieser Prozeß kann sich vielleicht bei ein und demselben Kern vielfach hintereinander abspielen.

Die Megaloblasten dagegen sind außer durch ihre Größe durch die geringere Färbbarkeit des Kernes von den vorigen unterschieden; ihr Protoplasma, obwohl sehr hämoglobinreich, zeigt häufig anämische Degeneration, und ihr Kern zerfällt innerhalb der Zelle, um sich schließlich darin ganz aufzulösen. Diese Auffassung Ehrlichs war die beste Lösung für den von vielen Autoren ausgefochtenen Streit über die Art der Umbildung von kernhaltigen in kernlose rote Blutkörperchen, indem die einzelnen Forscher immer nur die eine Art, entweder ausschließlich die Kernausstoßung oder ausschließlich den Kernzerfall, gelten lassen wollten; Ehrlichs Hinweis auf das verschiedene Verhalten je nach der Art der Erythroblasten gab eine befriedigende Vermittlung. —

Beim gesunden erwachsenen Menschen, sowohl im Blut als in den

Blutbildungsstätten, besonders im Knochenmark, konnte Ehrlich ausschließlich Normoblasten, niemals Megaloblasten finden; wohl aber ließen sich letztere normalerweise im Blute und den blutbildenden Organen von Embryonen nachweisen. Danach ist die megaloblastische Art der Blutbildung gekennzeichnet als Typus der embryonalen Blutbildung, und deshalb nennt Ehrlich die Zustände, in denen auch beim Erwachsenen Megaloblasten zu finden sind, „einen Rückschlag ins Embryonale".

Diese Befunde an Gesunden führten Ehrlich zu der glücklichsten Lösung einer Reihe von Schwierigkeiten, mit denen die klinische Erforschung der anämischen Zustände zu kämpfen hatte. Seitdem durch Biermer die allgemeine Aufmerksamkeit auf das Krankheitsbild der progressiven perniziösen Anämie gelenkt war, ging das Bemühen der Klinik dahin, brauchbare Merkmale für die Einteilung der Anämien, die Abtrennung der gutartigen Formen von den perniziösen zu finden. Aber weder der allgemeine klinische Symptomenkomplex, noch spezielle Zeichen, wie etwa die Blutungen im Augenhintergrund, bewährten sich in der Praxis, ebenso versagten in dieser Hinsicht durchaus einige als charakteristisch bezeichnete Veränderungen des Blutes, wie die Poikilocyten- und Mikrocytenbildung. Nur die namentlich Laache zuzuschreibende Entdeckung, daß das Blut bei der progressiven perniziösen Anämie ungewöhnlich große und hämoglobinreiche Blutscheiben enthielte, erwies sich durchaus als stichhaltig, aber sie machte das Wesen der Krankheit noch rätselhafter durch den Widerspruch, der darin lag, daß die bösartigste Anämie durch scheinbar besonders funktionstüchtige Erythrocyten ausgezeichnet war.

Ehrlichs Nachweis der Megaloblasten erhellte dieses Dunkel. Es war nun klar zu sehen, daß die großen kernhaltigen Blutkörperchen die Vorstufen der Megalocyten und Gigantocyten seien, und daß die Schwere der megaloblastisch-megalocytischen Erkrankung darin begründet lag, daß eben die Blutbildung den normalen Modus des Erwachsenen verlassen hatte und nach der Art der embryonalen Periode erfolgte. Der megaloblastische Typus ist, wie Ehrlich sagte, in doppelter Hinsicht ein unzweckmäßiger zu nennen; erstens ist der Megaloblast nach der Art seines Kernschicksals immer nur imstande, einen Megalocyten zu bilden, während aus dem Normoblasten „eine ganze Brut von Normocyten" hervorgehen kann, und zweitens wird durch das übergroße Volumen die respiratorische Fläche des gesamten Hämoglobins verkleinert. —

Es ergaben sich ferner aus dieser Lehre sehr viel schärfere Anhaltspunkte für die Diagnose der Krankheit; denn da häufig die Megalocytose nicht sehr stark ausgesprochen ist, gibt der Nachweis von Megaloblasten in solchen Fällen erst die nötige Sicherheit. Es sei hier ausdrücklich

betont, daß Ehrlich in diesem Punkte keineswegs so extreme Anschauungen vertreten hat, wie ihm auf Grund mangelhafter Kenntnis seiner Arbeiten häufig zum Vorwurf gemacht worden ist; so hat er sich nie zu dem Satz verstiegen: wo ein Megaloblast ist, da besteht progressive perniziöse Anämie, sondern er drückt sich (vgl. l. c. [23]) Leipziger Kongreß S.A. S. 14) in dieser Hinsicht wie folgt aus: „Auf das vereinzelte Vorkommen eines Megaloblasten, zumal der kleineren Art, neben einer überwiegenden Anzahl von Normoblasten, würde ich ebenfalls keinen zu großen Wert legen; dagegen sehe ich in dem ausschließlichen Vorkommen von Megaloblasten in geringerer Menge einen fast sicheren Beweis der perniziösen Natur der Erkrankung."

Noch auf eine weitere Form schwerster Anämien hat Ehrlich als erster aufmerksam gemacht, die von ihm sog. „aplastische Anämie"[25]). Sie unterscheidet sich von den anderen Formen durch das völlige Ausbleiben einer regenerativen Tätigkeit des Knochenmarks. In den beiden von Ehrlich beschriebenen Fällen handelte es sich — wie auch in der Mehrzahl der späteren von anderen Autoren beobachteten — um posthämorrhagische Anämien. Nicht nur das Verhalten der roten Blutkörperchen, sondern auch die starke Herabsetzung der Zahl der weißen Knochenmarkelemente des Blutes ließen Ehrlich die Diagnose stellen, die denn auch der Sektionsbefund des Knochenmarkes bestätigte. —

So verdanken wir Ehrlich auch die Beseitigung der großen Unsicherheit der Diagnose in den schweren anämischen Zuständen, und man kann wohl sagen, daß dank seinen Methoden wir in diesem Punkte beinahe so weit gekommen sind, wie in der Diagnose der Leukämie; mit nur seltenen Ausnahmen sind wir allein schon aus der Betrachtung des mikroskopischen Blutpräparates imstande, die Diagnose der Erkrankung zu stellen. —

Noch eine weitere Frage aus dem Gebiet der klinischen Hämatologie hat Ehrlich experimentell behandelt: die der paroxystischen Hämoglobinurie[26])[27]). Er wies nach, daß in dem auf die übliche Weise aus der Fingerstichwunde während des Anfalles entnommenen Blut solcher Kranken auch bei genauester Untersuchung morphologisch keinerlei Abweichungen von der Norm festzustellen waren. Aber auf andere Weise gelangte Ehrlich zu einem positiven Ergebnis: er legte einer derartigen Patientin um einen Finger eine elastische Ligatur und tauchte ihn dann je eine Viertelstunde lang in eiskaltes und in laues Wasser. Beim normalen Individuum zeigt

---

[25]) Charité-Annalen, **XIII**, 300, **1888** [*46*].

[26]) Verein f. innere Med., Deutsche med. Wochenschr., H. 16, S. 224; **1881** und Zeitschr. f. klin. Med., **III**, 383, **1881** [*10*].

[27]) Charité-Annalen, **X**, 136, **1885**, [*34*].

unter diesen Umständen das der Kuppe des abgebundenen Fingers entnommene Blut keinerlei Veränderung; bei den an Hämoglobinurie Leidenden zeigte sich dagegen deutlich eine mehr oder weniger reichliche Auflösung der roten Blutkörperchen, die schon an der Farbe des abgesetzten Serums erkennbar war, noch deutlicher im mikroskopischen Bild. Die spätere Analyse des Blures bei paroxysmaler Hämoglobinurie mittels der Methoden der Immunitäts- und Serumforschung durch Donath und Landsteiner hat gewissermaßen eine Reproduktion des Ehrlichschen Experimentes in vitro ergeben und eine Erklärung in der Erkenntnis, daß ein ambozeptorartiger Stoff im Hämoglobinurikerblute von den eigenen Blutkörperchen in der Kälte verankert wird. In derartigem Blut fand Ehrlich

1. zahlreiche vollkommen normale rote Blutkörperchen,
2. zahlreiche Poikilo- und Mikrocyten; letztere beträchtlich überwiegend,
3. vollkommen entfärbte Stromata der roten Blutkörperchen („Schatten" Ponficks),
4. beginnende Schattenbildung,
5. zahlreiche Rießsche Zerfallkörperchen,
6. blutkörperchenhaltige Zellen und
7. eigentümliche mononukleäre große Zellen, deren Protoplasma sich in Scharlachglyzerin dunkelrot, deren Kerne sich gelb-orange färben.

Zuerst nahm Ehrlich mit anderen Autoren an, daß die Kälte durch Schwächung der Stromata zur Zerstörung der Erythrocyten führte; im weiteren Experiment überzeugte er sich aber, daß die Kälte in vitro die Struktur der Scheiben unverändert ließ und kam deshalb zu dem Schluß, daß bei spezifisch disponierten Individuen durch die Kälte die Gefäßwände derart beeinflußt würden, daß sie hämolytische Fermente absondern.

Als eine Vorstufe der eben geschilderten Veränderungen bezeichnete Ehrlich die von ihm sog. „hämoglobinämischen Innenkörper". Bei seinen Studien über eine große Zahl von Blutgiften fand er eine eigenartige Entartung, die darin besteht, daß sich im Innern der roten Blutscheibe ein oder mehrere kuglige Gebilde formen, die das Hämoglobin in einer widerstandsfähigeren Verbindung, vielleicht als Methämoglobin, enthalten. Besonders schön ließen sich diese Körperchen im Trockenpräparat mit dem Eosin-Nigrosingemisch oder mit Fuchsin darstellen.

Verwiesen sei in diesem Zusammenhange auch auf frühzeitige Untersuchungen Ehrlichs[28]) über experimentelle Hämoglobinurie und Degeneration

[28]) Zentrbl. f. d. med. Wiss., H. 42, **1881** [*11*].

der Erythrocyten (mit eigentümlichen Herzinfarkten) nach Nitrophenylpropiolsäureinjektion.

Zum Schluß seien noch zwei wichtige Methoden geschildert, zu denen nach Ehrlich das Bluttrockenpräparat direkt ohne vorhergehende Fixation verwendet werden kann: der Nachweis von Glykogen im Blut und die mikroskopische Prüfung der Verteilung des Alkali im Blut.

Die Glykogenbestimmung arbeitete Ehrlich zur Unterstützung der Diabetesstudien seines Lehrers Frerichs[29]) aus, und zwar führte er sie auf zweierlei Weise durch. Ursprünglich brachte er das Präparat einfach in einen Tropfen dicker geklärter Jodgummilösung unter das Mikroskop; später veränderte er das Verfahren, indem er das Präparat in einem geschlossenen Gefäß den Dämpfen einiger darin enthaltener Jodkristalle für einige Minuten aussetzte. Hat es dann eine dunkelbraune Farbe angenommen, so wird es mit Lävulosesirup eingebettet. Auf diese Weise läßt sich das Glykogen extra- und intrazellulär durch seine Mahagonifarbe sehr leicht erkennen.

Die mikroskopische Prüfung der Verteilung des Alkali im Blut geschieht nach Ehrlich (l. c. [12], S. 30, II. Auflage, S. 39) so, daß das Trockenpräparat in eine Chloroform- oder Toluollösung von freiem Jodeosin gebracht wird; hier färbt es sich schnell dunkelrot, wird dann in reinem Chloroform ausgewaschen und noch feucht von Chloroform in Kanadabalsam eingebettet. Es gelingt auf diese Weise der Nachweis, daß das Protoplasma der Leukocyten und ganz besonders das der Lymphocyten, sowie die Blutplättchen starke Alkalinität besitzen.

---

In gedrängter Übersicht sind dies die Ergebnisse der Arbeit, die Ehrlich in jüngeren Jahren einem Gebiet gewidmet hat, das bis dahin auf Grund unzulänglicher Methoden jahrzehntelang keine wesentlichen Fortschritte zu verzeichnen gehabt hatte. Es ist keineswegs die Übertreibung des Festschriftstiles, wenn man von Ehrlichs Arbeiten eine neue Epoche der hämatologischen Forschung datiert, und es entspricht nur einer gerechten Würdigung seiner Verdienste, wenn man hinzufügt, daß er nicht nur die neue Ära eingeleitet, sondern die grundlegenden Fragen auch im wesentlichen zum Abschluß gebracht hat.

Die überwältigende Mehrzahl der hämatologischen Arbeiten nach Ehrlich fußen auf den seinen, und in diesem Sinne sind fast alle Forscher auf diesem Gebiete Ehrlichs Schüler zu nennen. Von denen, die das Glück hatten, unmittelbar seiner Schule anzugehören, haben einige auch das spezielle Gebiet der Hämatologie gewählt und im Sinne ihres Meisters

---

[29]) Zeitschr. f. klin. Med. **VI**, 33 **1883** [*20*].

auszubauen versucht. Erwähnt seien hier die Forschungen von C. S. Engel über die Blutentwicklung, sowie dessen bekannter „Leitfaden zur klinischen Untersuchung des Blutes", ferner außer den schon oben im Text genannten Mitarbeitern Ehrlichs die Arbeiten von Reinbach: „Über das Verhalten der Leukocyten bei malignen Tumoren", von Goldmann: „Beitrag zu der Lehre vom malignen Lymphom", sowie die unter unmittelbarer Leitung Ehrlichs entstandene Bearbeitung der Anämie und Leukämie im Nothnagelschen Handbuch durch Lazarus, Pinkus und Naegeli.

Mit Recht konnte Ehrlich im Vorwort zur zweiten Auflage der „Anämie" im Jahre 1909 es aussprechen: „Es muß mir die größte Befriedigung gewähren, daß meine Saat auf so fruchtbaren Boden gefallen ist; aber mit besonderer Genugtuung sehe ich nach Ablauf dieses Jahrzehnts, daß die Ansichten, die ich von vornherein als die Grundlagen der modernen zellularen Hämatologie verfochten habe, trotz vielfacher Befehdung durch ausgezeichnete Gegner immer weiter sich verbreitet haben, und ich bin überzeugt, daß im Prinzip sehr bald vollkommene Einigkeit in diesen Fragen unter den Fachgenossen, durchaus im Sinne meiner Lehren, herrschen wird. Wohl haben die neueren Arbeiten aus dem von mir errichteten Gebäude auf der einen Seite so manchen Stein entfernt, auf der anderen seinen Ausbau wesentlich gefördert; aber der Grundriß ist davon in keinem wichtigen Punkte berührt worden."

5.

# Neurologie.

Von

**L. Edinger,**
Frankfurt a. M.

An den Stammbäumen, welche uns die Zoologen zeigen, sieht man oft, wie aus einer Urform sich zahlreiche Zweige abspalten, die sich in ganz verschiedenem Grade fruchtbar zeigen. Hier entwickelt sich ein Ast zu einer an Familien und Arten ungemein reichen Verzweigung, da bleibt ein anderer auf wenige Seitenlinien beschränkt, und dort entwickeln sich aus einem zunächst armen Zweige reiche Äste, wenn er unter geeignetere Lebensbedingungen kommt. An solche Stammbäume erinnert das Werk eines geistvollen Forschers. Aus einer Grundidee erwachsen nach den mannigfachsten Seiten hin neue Anregungen, und außer dem Bau, den sie selbst errichten will, entwickeln sich neben, vor und nach ihm oft Bauten, die den erst gewollten an Großartigkeit erreichen, oft übertreffen. Als im Anfang der 80er Jahre Paul Ehrlich an die Frage herantrat, die ihn bis heute beschäftigt: wie lokalisieren sich die Arzneikörper?, da sprach er es bald klar aus, daß die Pharmakologie seiner Zeit, zu schematisch arbeitend, gerade eine besonders wichtige Seite der Arzneiwirkung, das Warum und auch den Ort des Angreifens der Gifte an den Geweben mit Unrecht vernachlässige. Weiter geführt, hat diese Arbeit bekanntlich die besten Resultate gerade für die Arzneiwirkung gezeitigt. Damals aber galt es zunächst, irgendwie chemisch die Lokalisation chemischer Stoffe an den Geweben festzustellen. Für die Alkaloide usw. war das ja zunächst nicht möglich, aber in den Farben wurde bald etwas gefunden, das, in den lebenden Körper eingeführt, sich mit bestimmten Zellgruppen verbinden, andere freilassen mochte. Man besaß damals schon eine außerordentliche Fülle synthetisch hergestellter Farbstoffe, deren Struktur bis

in das kleinste Detail erkannt war, und die Hoffnung schien verwirklichbar, daß sich zwischen Konstitution und Verteilung im Körper wichtige Beziehungen erkennen lassen möchten. Im Verlaufe dieser Untersuchungen fand Ehrlich, daß das Methylenblau eine außerordentliche Verwandtschaft zu den feinsten Verzweigungen des Achsenzylinders der Nervenfaser besitze, und daß es möglich ist an den Geweben von Tieren, in deren Blut Methylenblau gekreist hat, die Nervenendigungen lebend und mit einer Deutlichkeit zu verfolgen, die damals und auch heute durch keine andere Methode erreicht wurde.

Aus diesem Seitenzweige des großen Baumes Ehrlichscher Arbeit hat sich ein mächtiger eigener Baum entwickelt. Ehrlich selbst hat, nachdem er einmal die Grundtatsachen aufgedeckt, zu dieser ganzen Frage nicht mehr das Wort genommen. Desto eifriger wurde sie von anderen Seiten aufgegriffen, und wenn wir heute den Bau der peripheren Nervenendigung, die Anatomie des Nervensystems der Evertebraten und so vieles andere hierher gehörige zu verstehen beginnen, so verdanken wir es jener kurzen Mitteilung, die Ehrlich am 21. Dezember 1885 im Verein für innere Medizin über die Methylenblaureaktion der lebenden Nervensubstanz gemacht hat.

Die Darstellung dieses Vortrags[1] [2] in der Deutschen medizinischen Wochenschrift ist einer der inhaltsreichsten Aufsätze, die jene Zeitschrift je gebracht hat. Was gegeben wird, wie es begründet wird, wohin weitere Wege führen, ein wie mächtiges Arbeitsfeld jetzt auszubauen sein wird, all das stempelt jenen Aufsatz zu einem der klassischen der medizinischen Literatur. Ehrlich legt zunächst Abbildungen von Präparaten vor, die an den Geschmackspapillen des Frosches, an den sensiblen Nerven seiner Blase, an den Nerven einer kleinen Vene und an denen des Herzens einen vital imbibierten Nervenplexus zeigten, wie man ihn in solcher Feinheit nicht geahnt hatte. Endapparate in der Riechschleimhaut und in der Blase, ja das gesamte Nervensystem eines lebend noch unter dem Mikroskop herumkriechenden Wurmes waren gefärbt. Das waren aber schließlich nur einzelne Fakten von rein anatomischer Bedeutung. Viel wichtiger war der hier gleich mitgeteilte Befund, daß die sympathischen Ganglienzellen ausschließlich an der Spiralfaser blau wurden, während die Achsenzylinder sich nicht färbten, und daß die Spiralfaser durch Teilung in feinste Fibrillen ein Nervenendnetz bildet, das die Oberfläche der Zelle mit seinen Massen umflicht. Von diesem Netz enden abgelöste Reiser distinkt mit knopfförmigen Terminal-

[1] Deutsche med. Wochenschr., H. 4, **1886** [*36*].
[2] Biol. Zentrbl., **VI**, 214, **1887** [*42*].

anschwellungen auf der Zelloberfläche. Diese Oberflächenverbreitung wurde an allen Stellen der sympathischen Innervation nachgewiesen. Der Fund, daß der gerade Fortsatz nicht die geringste Affinität zum Methylenblau besitzt, deutet auf prinzipielle Differenzen seiner Funktion hin. Ehrlich spricht schon präzis aus, daß hier eine Faser, indes sie auf einer Zelloberfläche endet, auf die Zelle etwas überträgt, das von einer anderen Zelle kommt, ganz wie die motorische Nervenendigung etwas auf die Muskelsubstanz überträgt. Die Ganglienzellen müssen auf das Übertragen hin in ihrer spezifischen Weise durch den geraden, nach außen sich fortpflanzenden Achsenzylinder antworten. Heute wissen wir auch, daß die Muskelendplatte pharmakologisch anders als die Muskelsubstanz reagiert, und Ehrlich sprach damals aus, daß auch auf den Ganglienzellen Nervenfasern sein möchten, die auf giftige Körper sich anders verhalten, wie die Ganglienzelle selbst, die ähnlich wie das Methylenblau bestimmte Körper an sich allein anreißen. Die später so wichtig gewordene Frage, ob die der Ganglienzelle zufließenden Fasern sich nur an sie anlegen oder mit ihr verschmelzen, wird hier gleichfalls bereits gestreift. Ehrlich sieht die zutretende Faser scharf abgesetzt, gleichwie auf einem fremden dishomogenen Material enden. Mit einem Schlage war hier auch nachgewiesen, daß die Fortsätze der Ganglienzelle, welche die älteren Arbeitsmethoden kennen gelehrt hatten, durchaus verschiedener Natur sein können. Gerade diese letztere Frage hat Ehrlich am Spinalganglion der Frösche weiter studiert. Auch hier fand er bald, daß auf der Oberfläche der meist ungefärbt bleibenden Ganglienzelle kollosal variköse Fasern mit Endknöpfen enden. Wir wissen heute, daß es die Ausläufer des sympathischen Systems sind. Ehrlich will von jetzt an Zellfortsätze und Zellansätze unterschieden wissen, ein Geistesblitz, der die Neurontheorie, welche in den nächsten Jahrzehnten die Anatomie so viel beschäftigt hat, eigentlich voraus nimmt. Er ist übrigens in deren sonst so reicher Literatur übersehen. Für die Zellchemie wichtig scheint der bei dieser Gelegenheit erhobene Befund, daß da, wo der Achsenzylinder von der Spinalganglienzelle abgeht, ein kurzes Zwischenstück liegt, das aus blauen Fibrillen besteht, die unmittelbar nach Eintritt in die Zelle enden.

Bei all dem handelt es sich, wie wir inzwischen durch die Untersuchungen von Dogiel erfahren haben, um glücklich eingetretene Teilfärbung und deren noch glücklichere Beobachtung; denn sowohl Spinal- als Sympathikuszellen färben sich bei längerer Einwirkung des Methylenblaus total. Partialfärbungen gelangen auch in der Oblongata und in der Großhirnrinde, und gleich damals wurde bereits das Nervensystem des Krebses in das Bereich der Untersuchungen gezogen, bei dem die Nerven-

faserfärbung so fein gelingt, daß das gerade hier den Ausgangspunkt für zahlreiche spätere Untersuchungen gegeben hat.

Kein Zweifel, die Methylenblaureaktion war eine allgemeine Eigenschaft der Achsenzylindersubstanzen. Warum färbt Methylenblau die Nerven? Da seine Konstitution bekannt war, konnte man eine Reihe verwandter Körper, das Thionin, das Dimethylthionin und das Methylenviolett, auch das Methylenazur heranziehen. Sie gaben die gleichen färberischen Resultate. Ehrlich vermutet, daß der Schwefel, der allen gemeinsam ist, von Wichtigkeit ist, und diese Vermutung wurde zur Gewißheit, als er das Dimethylphenylengrün heranzog, welches sich im wesentlichen durch das Fehlen des Schwefels von den oben erwähnten Körpern unterscheidet. Es erwies sich als sehr giftig, färbte aber die Nervenzellen durchaus nicht. Alle Herzmuskelzellen wurden gleichmäßig grün, während das Methylenblau im Herzen nur die Gefäßmuskelzellen tingiert.

Von besonderer Wichtigkeit für das Verständnis der Alkaloidwirkung ist nun die Beantwortung der Frage, warum das Methylenblau nicht alle, sondern nur einen Teil der Nervenfasern färbt. Auch hier ist aus der damaligen Unvollkommenheit der Färbung — wir wissen heute, daß sich wohl alle Nervenfasern färben lassen — eine sehr wichtige Darstellung entstanden. Ehrlich untersuchte die Bedingungen, unter denen die Färbung zustande kommt. Weil die Zunge sich besonders gut färbt, wenn das Maul aufgesperrt war, kam er zur Vermutung, daß die Sauerstoffsättigung der Nervenendigungen die Färbung durch Methylenblau begünstige. Schon früher hatte er nachgewiesen, daß die Augen-, Kehlkopf- und Zwerchfellmuskeln am besten mit Sauerstoff gesättigt sind, und da gerade an diesen Orten die Nervenendigungen besonders leicht darzustellen sind, so sprach das ganz in diesem Sinne. Ehrlich hat später mit H. Aronson[3]) diesen speziellen Punkt nochmals angegriffen, und sie haben gezeigt, daß das Methylenblau durch verschiedene reduzierende Agentien, unter Aufnahme zweier H-Atome in das farblose Leukomethylenblau übergeführt wird, welches bei Luftzutritt von neuem in das blaue Oxydationsprodukt sich umwandelt. Die lebenden Nerven sind vielfach so reich an Sauerstoff, daß sie das Methylenblau nicht reduzieren; nach dem Tod des Tieres tun sie es oft, aber man kann durch Luftzutritt zu den Geweben den farblosen Körper wieder in den blauen umwandeln. Damals aber war das Ehrlich noch nicht bekannt, und er suchte nach einem weiteren Prinzip, das es erklären könnte, warum die gerade Faser der sympathischen Zellen etwa eine schlechtere Sauerstoffsättigung haben sollte, als die gewundene. Dies Prinzip glaubte er in der Reaktion der Faser

[3]) I.-D. Berlin **1886** [*244*].

zu finden, und zwar in der alkalischen, welche allein das Blau nicht stört. Indem er so annimmt, daß saure, alkalisch reagierende und auch neutrale Nervenfasern vorkommen, gelangt er zu der Vorstellung, daß im Nervensystem je nach dem Orte und der Funktion eine vieltönige Abstufung der Alkaleszenzgrade stattfinde, die im Verein mit den Veränderungen der Sauerstoffschädigung darüber entscheidet, ob und welche Körper in den bestimmten Territorien aufgenommen werden können. Wie nahe diese Theorie zu einer solchen der Alkaloidwirkung stehen muß, das liegt auf der Hand.

Die zahlreichen Anregungen, welche diese Arbeit enthielt, wurden bald von seiten der Anatomen aufgenommen, und es entwickelte sich eine reiche Literatur. Zunächst galt es die Technik, welche nicht immer sichere Resultate gab, zu verbessern, und aus diesem Bestreben sind viele Arbeiten, namentlich von Arnstein, Dogiel u. a. hervorgegangen. Man weiß jetzt, daß, reichliche Sauerstoffzufuhr vorausgesetzt, es sich bequemer an überlebenden Gewebsstücken arbeiten läßt, und längst hat man das Verfahren auch auf menschliche Teile angewendet. Durch Bethe und Dogiel haben wir auch gelernt, das Methylenblau im Gewebe zu fixieren, und dadurch ist es möglich geworden, nicht nur Quetschpräparate, sondern auch Schnitte zu untersuchen. Noch immer aber sind nicht alle Bedingungen des Zustandekommens bekannt, und es ist merkwürdig, daß gerade diese Seite der Methylenblaufärbung, deren Wichtigkeit Ehrlich ja in seiner Arbeit so sehr betont hat, eben das Warum der Färbung, ihre pharmakologische Seite bisher noch wenig studiert worden ist. Ehrlich selbst hat noch einmal sich durch die Arbeit eines seiner Schüler, Durdufi[4]), an diesen Arbeiten beteiligt, indem er ihm die Aufgabe stellte, die Färbung der Nervenendigungen nach Durchschneidung sensibler Nerven genauer zu studieren. Es wird eine Froschzunge, deren einer Glossopharyngeus durchschnitten ist, mit einem Reizmittel behandelt, Jod, Senf, dann färbt Methylenblau die nervenhaltige Seite weit intensiver und schneller als die operierte.

Die Resultate, welche die Anatomie der vitalen Methylenblaufärbung verdankt, sind beträchtliche. Zum erstenmal haben wir durch sie Überblicke über kleine ganze Nervensysteme gewinnen können. Bethe hat uns das an dem Krebs Carcinus maenas, Retzius an mehreren Würmern ermöglicht. Die ganze Innervation der inneren Organe ist neu aufgebaut worden, die Nerven der Leber und der Lunge sind von Wolff, die mannigfachsten Endapparate in der Haut und den Schleimhäuten sind durch Dogiel und im Laufe langer Jahre durch zahlreiche Schüler des

[4]) Deutsche med. Wochenschr., H. 26, **1888** [*342*].

Dogielschen Laboratoriums uns näher bekannt geworden. Dogiel speziell, dann Retzius, Wunderer u. a. haben die verschiedenen Terminalkörperchen studiert und uns da einen Reichtum der Innervation kennen gelehrt, wie er vorher ganz unbekannt war. An Tieren, deren Nervensystem überhaupt vorher kaum zu studieren war, dem Amphioxus z. B., hat man durch das Methylenblauverfahren den ganzen Verlauf, auch der peripheren Nerven erkannt. Die Endigungen in den Muskeln, in den Epithelien der Schleimhaut sind viel studiert, kurz die Ehrlichsche Methylenblaumethode ist bis heute die Methode für die Erforschung der feineren Verteilung der Nervenfasern geblieben, welche von keiner anderen übertroffen wird.

Die neurotrope Wirkung des Methylenblaus hat Ehrlich dann später benutzt, um gemeinsam mit Leppmann zu untersuchen[5]), ob man dadurch nicht Schmerzen beeinflussen könnte. In der Tat fanden sie wenige Stunden nach subkutaner oder intestinaler Einverleibung von 0,1—0,5, daß bei neuritischen Prozessen, bei rheumatischen Affektionen der Knochen, Sehnenscheiden usw. die Schmerzen außerordentlich nachließen, ja es trat bei weiterer Injektion oft völlige Schmerzlosigkeit auf. Sie nahmen an, daß es sich um Bildung einer unlöslichen Verbindung zwischen Farbstoff und gewissen Teilen der Nervensubstanz handele, welche, den chemischen Zustand der Nerven ändernd, zeitweise schmerzlindernd wirkt. Das Mittel ist später im gleichen Sinne noch oft angewandt worden; die Resultate sind aber bei schweren Neuralgieen nicht so, daß sie mit den inzwischen aufgekommenen Antineuralgicis konkurieren können. Auch ist die Theorie nicht ganz klar; denn es ist nicht einzusehen, warum nicht auch in den motorischen Nerven, deren Achsenzylinder ja das Methylenblau auch aufnehmen, gleichzeitig Leitungsstörungen auftreten sollten. Derartiges ist aber nicht beobachtet. Ich selbst habe das Mittel oft versucht, aber nur einzelne recht gute Erfolge gehabt, vielfach aber hat es mir versagt. Jedenfalls sind die Bedingungen, unter denen es nutzt, noch zu ermitteln.

Noch auf einem anderen Gebiet der Nervenanatomie hat Ehrlich gearbeitet. Er hat sich mit Brieger zusammen die Frage gestellt[6]), wie die klinischen und anatomischen Verhältnisse von Nerv und Muskel sich gestalten möchten, wenn man die graue Substanz des Rückenmarks ausschaltet. Das ist möglich, wenn man eine ischämische Nekrose erzeugt. Nach der Abklemmung der Aorta (Stenson) stirbt die graue Substanz schnell ab, während die weiße, wenn man die Ligatur nicht zu spät

[5]) Deutsche med. Wochenschr., H. 23, **1890** [*190*].
[6]) Zeitschr. f. klin. Med., **VII**, Suppl., S. 155, **1884** [*170*].

löst, wieder ihre Lebens- und Leitungsfähigkeit gewinnt. Ehrlich und Brieger haben das anatomisch studiert, sie haben die graue Substanz durch Nekrose sozusagen bei Kaninchen herausgeschält und danach die Lähmungen in den Beinen, der Blase usw. studiert. Was sie in feiner Beobachtung über den Ursprung der Hinterstränge und der sensiblen Nerven aus den Spinalganglien erschlossen, das hat sich bekanntlich später auf ganz anderen Wegen vielfach bestätigt. Auch die Beobachtung, daß in der gelähmten Blase rasch Hypertrophien entstehen, und daß, wenn man die Tiere nur genügend pflegt, keinerlei trophische Veränderungen auftreten, reiht sich den früheren und späteren Erfahrungen vollständig an. Anatomisch war die graue Substanz, mit Ausnahme der ja aus den Spinalganglien einstrahlenden Hinterwurzeln, zerstört. Von ihr gingen sekundäre Entartungen aus, welche mit der damaligen Technik nicht alle mit der Sicherheit verfolgt werden konnten, die heute möglich ist. Die motorischen Nerven entarteten total. In dieser Arbeit finden sich auch Bemerkungen über die Tabes, trophische Zentren usw.

6.

# Bakteriologie.

Von

**M. Neißer,**

Frankfurt a. M.

Ehrlichs Arbeiten auf bakteriologischem Gebiete lassen zwei Abschnitte erkennen, deren zweiter mit der Übersiedlung nach Frankfurt und der Eröffnung des Königlichen Instituts für experimentelle Therapie daselbst beginnt (November 1899); denn dieses Institut erhielt eine neue dritte Abteilung, die bakteriologische, welche, als Entgelt für das Entgegenkommen der städtischen Behörden beim Bau und Betrieb des Instituts, bakteriologisch-diagnostische Untersuchungen für Krankenhaus und Privatärzte der Stadt ausführen sollte. So erhielt Frankfurt schon vom Jahre 1899 ab eine Organisation, wie sie erst in späteren Jahren, zumal seit dem preußischen Seuchengesetz vom Jahre 1905, anderwärts eingeführt wurde. Es bestand z. B. seit 1902 am Institut die organisierte Untersuchung auf Widalsche Reaktion für den ganzen Regierungsbezirk, mit welcher übrigens gleichzeitig jedesmal auch die Ehrlichsche Diazoreaktion (welche heute bei den amtlichen Typhusfeststellungen etwas vernachlässigt zu werden scheint) ausgeführt wurde. Außerdem wurde die Diphtheriebazillenuntersuchung nach dem Breslauer Muster organisiert, und schließlich bildeten die vielerlei anderweitigen klinisch-bakteriologischen Untersuchungen die praktischen Aufgaben der Abteilung. Wer Ehrlichs Denkweise kennt, wird sich klar darüber sein, daß diese praktischen Aufgaben nicht die ausschließliche Wirksamkeit der Abteilung bedeuten, vielmehr nur die Grundlage für forscherische Tätigkeit bilden sollten. Als großer Organisator, der er ist, wenn es sich um die bedeutsamen und wesentlichen Gesichtspunkte handelt, hat er immer daran festgehalten, daß ein großer Betrieb, wie er nun einmal für manche Aufgaben der Forschung erforderlich, nur zu erlangen und aufrecht zu

erhalten ist, wenn er zunächst praktischen Aufgaben dienstbar gemacht wird. Nur dürfen freilich diese praktischen Aufgaben nicht so überhandnehmen, daß von Personal und Mitteln nichts mehr für die Forschung übrig bleibt. Das aber drohte im Laufe der Jahre bei der bakteriologischen Abteilung einzutreten; die Fülle der praktischen Aufgaben, die sich an die Entwicklung der bakteriologischen Ära in Frankfurt knüpfte — die Zahl der bakteriologischen Untersuchungsobjekte stieg in 10 Jahren von 500 auf 5000 —, machte es immer schwieriger, den sich ebenfalls steigernden Anforderungen der forscherischen Tätigkeit zu genügen. Ehrlich bot deshalb selbst seine Hand dazu, diese Abteilung und die ihr obliegenden Aufgaben an ein neues, selbständiges Institut (das städtische hygienische Institut, Eröffnung Oktober 1909) abzugeben, in das er auch das ganze Personal der Abteilung und einen Teil der ihm bis dahin gewährten städtischen Mittel mitziehen ließ.

Während des zehnjährigen Bestehens der Abteilung überließ Ehrlich ihrem Leiter die Verantwortung für die Einzelheiten des praktischen Untersuchungsbetriebes und beschränkte in dieser Hinsicht seine Mitwirkung auf die allgemeinen organisatorischen Gesichtspunkte und auf sein Eingreifen in besonderen, allgemein wichtigen Fällen, wie es z. B. im Jahre 1903 geschah, als plötzlich an zwei Tagen eine größere Anzahl Diphtheriefälle zur Untersuchung kamen; schon am Abend des zweiten Tages wurden von ihm sämtliche Ärzte der Stadt davon in Kenntnis gesetzt, und es wurde damit erreicht, daß die Epidemie — es handelte sich vermutlich um eine Milch- bzw. Rahmepidemie — zwar nicht sofort koupiert wurde, aber jedenfalls nur einen beschränkten Umfang einnahm.

Diese Selbständigkeit der bakteriologischen Abteilung in bezug auf den Untersuchungsbetrieb trat auch in den wissenschaftlichen Arbeiten dadurch in äußerliche Erscheinung, daß seit ihrer Begründung keine bakteriologische Arbeit mehr mit Ehrlichs Namen erschienen ist. Damit soll gewiß keineswegs gesagt sein, daß er sein Interesse von der Bakteriologie abgewendet hätte; es ist im Gegenteil erstaunlich gewesen, mit welcher Aufmerksamkeit er trotz der vielen ihn interessierenden Gebiete auch die Literatur dieses Faches verfolgt hat, und wie oft die allen seinen Schülern wohlbekannten „Zettel“ mit wissenschaftlichen Anregungen und Hinweisen in die bakteriologische Abteilung wanderten. Noch weniger aber soll etwa gesagt sein, daß die bakteriologischen Arbeiten dieser Periode nicht letzten Endes in der Anregung oder in der Art der Bearbeitung auf ihn zurückzuführen seien. Wer die bakteriologischen Arbeiten dieser Periode durchblättert, wird oft genug Ehrlichs Hand erkennen, auch wenn sie nicht selbst den Griffel geführt hat.

Aber da es hier darauf ankommt, ein Bild von Ehrlichs wissenschaftlichem Wirken zu geben, so steht es dem Schreiber dieser Zeilen, welcher die bakteriologische Abteilung von ihrer Begründung bis zu ihrer Auflösung geleitet hat, nicht an, auf alle bakteriologischen Arbeiten dieser Periode genauer einzugehen; es sollen vielmehr nur diejenigen hier ausführlicher berücksichtigt werden, welche im unmittelbaren Zusammenhang mit Ehrlichs früheren oder gleichzeitigen Arbeiten auf anderen Gebieten, mit seiner Denkrichtung oder mit seiner so interessanten Arbeitsweise stehen.

Ganz im allgemeinen läßt sich aber von Ehrlichs bakteriologischer Wirksamkeit das sagen, was überhaupt für ihn gilt: Ihm waren im Grunde alle Forschungsobjekte — auch die Bakterien — nur Mittel zum Eindringen in die Geheimnisse des biologischen Geschehens, von ihm so lange und nur so lange benutzt, als sie ihm brauchbar erschienen, allgemeine biologische Rätsel zu lösen oder wenigstens klarer erscheinen zu lassen. Fielen bei dieser Arbeit „Späne" ab, welche praktisch-diagnostisches oder sonstiges Interesse boten, so ließ er sie gewiß nicht achtlos fallen, sondern arbeitete sie aufs gründlichste aus, aber es waren Nebenprodukte, deren Verwertung er der Mitwelt und Nachwelt überließ. Die neue Stufe der Erkenntnis, die neue gewonnene Basis für weitere Forschung, das war es, was ihn anspornte, was er schätzte und was ihn befriedigte. Auch im Bereiche der Bakteriologie war es nicht sein Streben, alle Lücken des Wissens, ob klein, ob groß, auszufüllen, aber er war auch da ein Meister der Forschung, der, stets an der Grenze von Bekanntem und Unbekanntem wandelnd, seinen Blick sehnsuchtsvoll nach dem unbekannten Lande richtet und nach dem geringsten Pfade späht, der ihn wenigstens ein Stück weit vorwärts führen könnte. Dieses ferne und unbekannte Land hieß ihm nicht Farbe oder Blutkörperchen oder Mikroorganismen, sondern Biologie.

Die bakterioskopischen Arbeiten Ehrlichs aus seiner ersten Arbeitsperiode schließen sich unmittelbar an seine färberischen Gewebs- und Blutkörperchenstudien an.

---

Über die bedeutsame Einführung des Methylenblaus in die Bakteriologie handelt seine erste Arbeit auf diesem Gebiete: Über das Metylenblau und seine klinisch-bakterioskopische Verwertung[1]):

„In einer Zeit, in der die Frage über die pathogene Bedeutung der Mikroorganismen im Vordergrund des medizinischen Denkens steht, dürfte es nicht überflüssig sein, Mittel anzugeben, die die Technik ihres Nachweises erleich-

[1]) Zeitschr. f. klin. Medizin, **II**, 710, **1881** [*9*].

tern, und hierdurch ein zurzeit von wenigen spezialistisch Geschulten bebautes Gebiet weiteren Kreisen zugänglich zu machen."

Da der direkte Zusatz von Färbmitteln zu organischen Flüssigkeiten, welche Mikroben enthalten, keine brauchbaren Resultate ergibt, so hat die Trockenmethode von Robert Koch „geradezu grundlegend gewirkt". Unter den Farbstoffen sind es die von ihm als Farbbasen bezeichneten Farben, die für die Bakterienfärbung in Betracht kommen. Aber die bis dahin verwendeten Farben: Bismarckbraun, Fuchsin, Methyl- und Gentianaviolett sind nicht die empfehlenswertesten. Nach Ehrlichs Auffassung beruht die Bakterienfärbung auf dem Prinzip der maximalen Entfärbung, indem die Bakterien maximal gefärbt werden, alles andere aber möglichst entfärbt gehalten wird. Da die erwähnten Farben aber außer den Bakterien auch Kerne, Protoplasma und schließlich auch Serum intensiv färben, so geben sie nicht genügend deutliche Bilder. Demgegenüber hat das Methylenblau eine Sonderstellung, da es eine maximale Verwandtschaft zu den Mikroorganismen, aber keine Tendenz zur Überfärbung zeigt, selbst wenn man gesättigte wäßrige Lösungen tagelang einwirken läßt. Ebenso wie wäßrige Lösungen färben übrigens auch gesättigte Lösungen von Methylenblau in einem Gemisch von gleichen Teilen Wasser und Glyzerin. Zur Färbung verwendet man gewöhnliche oder aber die nach Ehrlichs Methode erhitzten Trockenpräparate, färbt in mäßig konzentrierten wäßrigen Lösungen ½ bis 24 Stunden, spült kurz ab usw.

Den negativen bakterioskopischen Resultaten mißt Ehrlich selbst keinerlei Bedeutung bei, wie ihm zumal ein Fall von Endokarditis gezeigt hat, den er in einer Dissertation von Dr. Spilling[2]) hat publizieren lassen:

„Während des Lebens konnte hier in zahlreichen mit Methylenblau gefärbten Blutpräparaten bei sorgfältigster Untersuchung nie ein einziger Kokkus nachgewiesen werden; trotzdem sich nach der Sektion die typische Kolossalmilz aufs gleichmäßigste und dichteste von kugeligen Kokken und Kokkenhaufen durchsetzt fand, die sich intensiv in Methylenblau tingierten. Gerade diese Erfahrung zwingt mich, den negativen Resultaten, die ich bei der Untersuchung von puerperaler Sepsis erhielt, nur eine geringe Bedeutung beizulegen. Auch bei einem Falle von hämorrhagischen Pocken habe ich im Blut und im Inhalt der frischen Pusteln vergebens nach Mikroorganismen gefahndet und solche ebensowenig bei Scarlatina, weder im Blute noch im Serum von Vesikatorblasen, auffinden können." ... „Im Gegensatz hierzu fand ich bei den verschiedenen auf puerperal-septischer Basis entstehenden Entzündungen konstant Mikrokokken, die zumeist sich zu mehr oder weniger langen Ketten gruppiert erwiesen."

Die Anerkennung für die Einführung des Methylenblaus und der Erhitzung der Trockenpräparate geht vielleicht am besten aus den Worten

[2]) I.-D. Berlin **1880** [*590*].

Robert Kochs hervor, die er im Jahre 1881 (Mitteilungen des Kaiserlichen Gesundheitsamtes Bd. I) geschrieben hat:

„Was nun die Wahl der Farbstoffe betrifft, so verdanken wir auch hier Ehrlich die Einführung einer neuen, sehr zu empfehlenden Anilinfarbe, des Methylenblaus, welches sich ganz besonders zur Färbung von erhitzten Präparaten eignet."

Von besonderem Interesse ist eine Arbeit Ehrlichs aus seiner Assistentenzeit bei Frerichs. Sie ist in der bakteriologischen Literatur ziemlich verschwunden, aber sie ist für Ehrlichs Arbeitsweise so charakteristisch, daß sie hier ausführlicher wiedergegeben werden soll[3]).

Sie zerfällt in eine kurze Einleitung und in 2 Hauptkapitel, deren zweites (zur Diagnostik der karzinomatösen Pleuritis) hier unberücksichtigt bleiben kann; das erste Kapitel behandelt die Pleuritis im Wochenbett, zumal die hämorrhagische und ihre Beziehungen zu den Mikroorganismen und zu der Septikopyämie.

Einleitend betont Ehrlich die damaligen geringen Kenntnisse über die ursächlichen Momente des Wochenbettfiebers in seinen verschiedenen Erscheinungsformen und weist dann für sein spezielles Thema auf die Schwierigkeiten der Untersuchung*) hin, da sich ungefärbt wenig erkennen läßt, aber auch der Deutung von gefärbten Präparaten durch Gerinnsel, Artefakte u. dgl. Schwierigkeiten entgegenstehen. Erst der „geniale Vorschlag Kochs, das Trockenpräparat zur Färbung zu verwenden", brachte Fortschritte, aber auch dann zeigten gerade die serösen, in dünnen Schichten angetrockneten Flüssigkeiten die Neigung, sich bei der Färbung abzulösen, die erst behoben wurde durch „die Fixation des Eiweißes, die ich zuerst betont, und für die ich an erster Stelle die Erhitzungsmethode empfohlen habe und noch jetzt empfehle". Auch durch seine Einführung des Methylenblaus für die Untersuchung der Bakterien sei die Untersuchung auf Bakterien erheblich vereinfacht worden.

In dem ersten Kapitel erörtert er die verschiedenen Krankheitsbilder der Sepsis im Wochenbett und neigt zu der mykotischen Erklärung des Prozesses, mit der Annahme, daß dabei verschiedene Mikroben ursächlich in Betracht kommen können. Im Anschluß daran weist er, wohl zum ersten Male, auf die Möglichkeit von Mischinfektionen hin, dabei gegen Wolff polemisierend, welcher analoge Beobachtungen mitgeteilt hatte, sie aber im Sinne des Überganges von einer Bakterienart in die andere gedeutet hatte. Demgegenüber betont Ehrlich die Konstanz der Arten.

*) Es braucht kaum betont zu werden, daß damals die Verwendung der Centrifuge für diese Zwecke noch unbekannt war.

[3]) Charité-Annalen, **VII**, 199, **1882** [*16*].

In seinem ersten Falle beschreibt er den mikroskopischen Befund von Streptokokken*) in Pleuraexsudaten mit folgenden Worten:

„Letztere waren von mittlere Größe und wurden nie isoliert, sondern stets kettenförmig gruppiert vorgefunden. Kurze Ketten waren selten, und herrschten längere Formen bei weitem vor, in deren Zusammensetzung 50 bis 80 Einzelkokken sich befanden, die derart gruppiert waren, daß zwischen dicht genäherten Einzelpaaren immer ein größerer Zwischenraum vorhanden war. Stets war eine deutliche, auch tinktoriell darstellbare Schleimschicht vorhanden, die allerdings bei den kleineren Ketten mehr in den Vordergrund trat, als bei den größeren. Während nämlich die kürzeren Gebilde (z. B. die aus 2 oder 4 Kokken bestehenden) von einer schlank ovoiden Hülle umgeben waren, war dieselbe bei den langen Ketten auf eine schmale, die bekannte Rosenkranzform gerade nivellierende Schicht reduziert.

Die Ketten selbst lagen zur größeren Zahl frei im Serum; nur ausnahmsweise fanden sie sich Zellen eingelagert, die bald normal waren, bald eine Vakuolenbildung aufwiesen." ...

„Die Untersuchung des Blutes, welches zu gleicher Zeit wie das Exsudat gewonnen war, zeigte, daß in ihm Kugelbakterien vorhanden waren, die sich in ihrer Größe und ihren färberischen Eigenschaften vollkommen mit den eben beschriebenen deckten. Dieselben waren allerdings sehr spärlich, zumeist in der Form von Diplokokken und stets extrazellulär."

Wenn man bedenkt, daß die grundlegenden Staphylokokken- und Streptokokken-Arbeiten von Ogston 1882, von Fehleisen 1883, von Rosenbach 1884 erschienen sind, so wird man diesen Befunden Ehrlichs, die 1882 publiziert, aber, wie aus dem Band hervorgeht, bereits 1880, bzw. 1881 erhoben wurden, die Anerkennung als einer selbständigen und bedeutungsvollen Leistung nicht versagen.

In technischer Beziehung weist Ehrlich darauf hin, daß die Gerinnung des Exsudates nach der Entnahme leicht zu Irrtümern führt, indem sie die Mikroben einschließt und dadurch wie eine „Art Filtration" wirkt.

Er wendet sich dann gegen die Autoren, die auch im normalen Blute und bei allerhand Entzündungen und Ödemen Bakterien in größeren Mengen gefunden hätten. Auf Grund ausgedehnter Untersuchungen bestreitet er das; indessen hat er in mehreren anderen Fällen von Wochenbettfieber in den Entzündungsprodukten Bakterien gesehen, so daß er das Vorkommen derartiger Kokken in irgendwelchem Exsudate in diesen Fällen für ein infaustes Zeichen hält.

„Ich habe in vielen hundert Fällen das Blut, die verschiedenartigsten Exsudate, sowie die der Pleura, des Abdomens, als der Gelenke einer systematischen Untersuchung unterzogen, und mich nie davon überzeugen können, daß Bakterien im normalen Körper vorkämen und sich an den Orten gelegentlicher Reizung anhäuften. Selbst bei Erkrankungen, die sich deutlich als Infektionskrankheiten markierten, Scharlach, Pocken, Syphilis, habe ich

*) Siehe auch das Zitat aus der früheren Arbeit auf S. 86.

bei dem mir zugänglichen Material stets nur negative Resultate zu verzeichnen gehabt. Auch meine Versuche bei derartigen Prozessen, durch Vesikantien Blasenbildung zu erzielen und so eine Emigration zu provozieren, haben mir bei Scharlach, Diphtheritis, ja auch bei Puerperalfieber nicht das erwünschte Resultat gegeben. Ich bin daher der Ansicht, daß, wenn bei irgendeinem Exsudate Bakterien aufgefunden werden, hier nicht ein zufälliges Zusammentreffen vorliege, sondern daß die Anwesenheit der Bakterien die Entzündung hervorgerufen habe."

Von besonderem Interesse ist noch der Fall IV: Puerperale haemorhagische Pleuritis, durch Infarkte bedingt, „Tod". Hier galt sein Hauptaugenmerk der Untersuchung der Infarkte.

„Selbstverständlich benutzte ich die Gelegenheit, um mich davon zu überzeugen, ob überhaupt Bakterien die Infarkte verursacht, und welcher Art dieselben wären. Schon an den ersten Präparaten hatte ich darüber Gewißheit, daß die infiltrierten Partien auf das dichteste von Kugelbakterien durchsetzt seien. An Trockenpräparaten erwiesen sich dieselben als mittelgroße Elemente, die meist zu großen Haufen vereint waren, während andere Formationen (Kettenbildung) vollständig vermißt wurden. Die Kokken waren insgesamt von gleicher Größe und zeigten nur im tinktoriellen Verhalten gewisse Differenzen, indem sich ein Teil leicht und intensiv färbte, der andere die Farbe nur in geringem Maße aufnahm."

Es ist kein Zweifel, daß es sich um Staphylokokken gehandelt hat, die er nur in den Infarkten, nicht aber im Exsudate der Pleura fand. Aus diesem Grunde und aus weiteren Überlegungen nimmt er eine Mischinfektion an. Einen weiteren Fall von Mischinfektion beschreibt er in „Fall V. Gemischtes Puerperalfieber, aszendierendes, stäbchenführendes Exsudat, durch kleinen Infarkt bedingt, Allgemeininfektion mit Kugelbakterien".

Ich lasse den eigentümlichen Befund, ohne eine nahe liegende Deutung versuchen zu wollen, folgen:

„Ich hatte schon am 6. September, d. h. unmittelbar bei Beginn der Pleuritis, Gelegenheit, das Exsudat einer Untersuchung zu unterziehen. Es fanden sich neben relativ zahlreichen, gut erhaltenen Eiterkörperchen eine Unzahl feinster Bazillen, die nach Anwendung geeigneter Farbstoffe (Methylenblau und Neutralviolett), nur mit den stärksten Vergrößerungen mit Deutlichkeit sichtbar gemacht werden konnten. Dieselben waren außerordentlich zahlreich und durchsetzten, fast stets voneinander isoliert, das Serum in dichter Weise. Ganz vereinzelt fanden sich ausgewachsene Formen, die in ihrem Innern Sporenbildung zeigten; andere Mikroorganismen wurden nicht gefunden, derart, daß es sich auch in diesem Falle um eine Art Reinzüchtung handelte. Wenn ich noch hinzufüge, daß ich auch im Inhalt des Lungenabszesses dieselben Elemente auffinden konnte, so ist die Genese der Pleuritis wie die Erklärung ihrer Malignität ohne weiteres gegeben."

Wieder führen ihn Überlegungen und Beobachtungen zu der Auffassung, daß die Bazillen, so bösartig sie gewesen sein müssen, doch nicht

„die Träger der allgemeinen Infektionen gewesen seien", für welche er vielmehr wiederum Kokken ansieht. Zu dieser Auffassung kam er durch die Untersuchung der Milz, die er bald nach dem Tode punktierte. Mit großer Ausführlichkeit geht er dabei auf die Schwierigkeit der Untersuchung von gefärbten Milzpräparaten ein. Auch sein geliebtes Methylenblau hat ihn dabei im Stich gelassen, aber er fand in dem mit Scharlach gesättigten Glyzerin ein geeignetes Färbemittel. Trotzdem bedarf es strenger Kritik und guter Beobachtung, wenn man nicht die vielerlei Körnchen, die den Kokken so ähnlich sehen, sich aber durch Lagerung, ungleiche Größe und Form davon unterscheiden, für Bakterien halten will. Er fand indessen auch Kugelbakterien und zwar Diplokokken und machte die interessante und erst viel später wieder erhobene Beobachtung, daß die Kokken und zwar zu 3, 5 und 10 Paaren in dem Protoplasma (nie im Kern) der Gefäßendothelien lagen. Er hält deshalb die Gefäßendothelien der Milz für besonders befähigt zur Aufnahme der im Blute kreisenden Bakterien.

Recht interessante klinische Betrachtungen beschließen diesen Teil der wertvollen Arbeit.

Bemerkenswert wegen der allgemeinen Gesichtspunkte, die schon in der eben erwähnten Publikation angedeutet waren, ist eine gemeinsam mit L. Brieger publizierte Arbeit[4]). Einleitend sprechen die Autoren von der Wichtigkeit der neuen immunisatorischen Richtung:

„Dennoch läßt sich vom Allgemeinstandpunkte nicht verkennen, daß diesem Modus der Forschung eine gewisse Einseitigkeit anhaftet. A priori ist auch die Möglichkeit gegeben, daß ebenso wie der Körper durch gewisse Einflüsse gegen die Einwirkung bestimmter deletärer Mikrobien unempfindlich wird, auch umgekehrt seine Empfindlichkeit dafür gesteigert werden kann. Schon manche klinische Erfahrungen weisen auf das Vorkommen derartiger Verhältnisse hin. Mit demselben Recht, mit dem man das Nichtrezidivieren mancher Krankheiten für die Immunitätsbestrebungen verwertet hat, kann man auch die Tatsache, daß gewisse Krankheiten, Typhus exanthematicus, Erysipelas, manche Formen der Pneumonie, wenn einmal überstanden, die Neigung besitzen, weitere Rezidive nach sich zu ziehen, gleichsam als wäre mit der ersten Erkrankung die Prädisposition für die folgenden geschaffen, zugunsten der Annahme der Überempfänglichkeit des Organismus (Kontraimmunität) für bakteritische Einflüsse geltend machen. Wir selbst haben Gelegenheit gehabt, im Laufe der jüngsten Zeit zwei Fälle zu beobachten, die auf diese Frage ein helles Licht zu werfen geeignet sind, insofern als wir bei beiden Fällen die Wahrnehmung machten, daß bei gewissen Infektionskrankheiten ein an und für sich dem Menschen unschädlicher Pilz zum Agens einer tödlich verlaufenden Infektionskrankheit wurde. Es handelt sich hierbei um zwei nebeneinander verlaufende mikroparasitäre Infektionskrankheiten.

[4]) Berlin. klin. Wochenschr., H. 44, **1882** [*169*].

Ähnliche Beobachtungen waren bereits früher auf der Klinik erhoben worden. So hat der eine von uns (Ehrlich) Charité-Annalen, Jahrgang VII, S. 202 dieser Anschauung bereits Ausdruck gegeben" ...

„Ehrlich nahm für derartige Fälle, welche er als Mischinfektionen bezeichnete, an, daß die primäre Infektion eine relativ gutartige, lokal beschränkte sei, auf welche dann erst die zweite, den ganzen Körper invadierende Infektion sich aufpfropfe."

Es folgt dann die Beschreibung zweier Typhusfälle, in denen nach Einspritzung von Moschustinktur ein lokales malignes Ödem (oder vielleicht Gasphlegmone? N.) aufgetreten ist, während bei einer Reihe anderer mit derselben Tinktur und Spritze gespritzter, an Sepsis, Gallensteinkolik, Karzinom usw. leidender Patienten keinerlei üble Folgen auftraten. Für die Praxis schließen die Autoren daraus, daß man sich bei Typhus der Moschustinktur enthalten solle, von besonderem Interesse sind aber die prinzipiellen Erörterungen:

... „Alle diese Fälle von doppeltem Parasitismus sind auch nichts anderes als Mischinfektionen in der Weise, daß durch das Bestehen des Typhus, der Variola und des Milzbrands das Wuchern einer zweiten Pilzart erst ermöglicht wurde, die wohl auch, wie für das maligne Ödem gezeigt wurde, beim gesunden Organismus sich nicht entfalten können. Bei all derartigen Fällen würde also eine spezifische Schwächung des Körpers verausgesetzt, in der Weise, daß an und für sich nicht kampffähige Pilze imstande sind, in den menschlichen Organismus einzudringen und dort eine pathogenetische Wirkung auszuüben." ... „Man ist vielmehr zu der Annahme gezwungen, daß bei ganz bestimmten Krankheiten für bestimmte Pilze ein günstiger Nährboden geschaffen wird. Dieser Standpunkt dürfte auch auf das Heer der Nachkrankheiten ein gewisses Licht werfen." ... „In diesen Fällen müssen wir uns vorstellen, daß dieselben Bedingungen obwalten, und daß der menschliche Körper in derselben Weise umgeändert resp. prädisponiert werde, wie es durch den Diabetes für die Tuberkulose geschieht."

Mit dem Typhus beschäftigt sich eine weitere Mitteilung von Ehrlich, die er in der Sitzung des Vereins für innere Medizin vom 15. November 1886[5]) gemacht hat. Ehrlich berichtet dort über die Wirkung des Thallins (auch über die des Ortho-, Para- und Anathallins), das er alternierend mit der Kaltwasserbehandlung bei je 35 Typhusfällen versucht hat. Er spricht sich über die Antifieberwirkung, zumal auch über die Beeinflussung des Sensoriums günstig aus. Ehrlich scheint auch Desinfektionsversuche mit Thallin gemacht zu haben, denn er berichtet, daß eine 1½%ige Lösung abtötend auf Typhusbazillen wirke. Über weitere Publikationen Ehrlichs über das Thallin wird an anderer Stelle berichtet werden.

Inzwischen war Ehrlichs Name auch in den weitesten medizinischen Kreisen durch seine Tuberkelbazillenfärbung bekannt geworden. Robert

[5]) Deutsche med. Wochenschr., H. 48/50, **1886** [*40*].

Koch hatte am 24. März 1882 seine Entdeckung des Tuberkelbazillus in einer Sitzung der Berliner Physiologischen Gesellschaft bekannt gegeben; Ehrlich hat darüber in einem Nachruf auf Koch in der Frankfurter Zeitung 1910, Nr. 150 geschrieben:

„Es war in einem kleinen Raum des Physiologischen Instituts, als Koch in schlichten und klaren Worten unter Vorlegung zahlloser Präparate und Beweisstücke die Ätiologie der Tuberkulose mit überzeugender Kraft darlegte. Jeder, der diesem Vortrage beigewohnt hatte, war ergriffen, und ich muß sagen, daß mir jener Abend stets als mein größtes wissenschaftliches Erlebnis in Erinnerung geblieben ist."

Schon am nächsten Tage konnte Ehrlich seine neue Färbemethode dem Entdecker des Tuberkelbazillus, Robert Koch, demonstrieren. Seine färberischen Studien über das Amyloid hatten ihm einige Jahre vorher gezeigt, daß ein käufliches, augenscheinlich verunreinigtes Methylviolett besser färbe, als reinere Produkte. Er suchte deshalb die färberisch wichtige Verunreinigung und kam auf das Anilin. In der Tat vermochte er ein reines Methylviolett durch Hinzufügen von Anilin färberisch wirksamer zu machen. Auch hatte Ehrlich bei diesen Anilinfärbeversuchen an tuberkulösen Organen stäbchenartige, gefärbte Gebilde gesehen, an die er sich bei dem Kochschen Vortrage wieder erinnerte, und auf Grund des Kochschen Vortrages versuchte er sofort Tuberkelbazillen nach diesem Färbeprinzip zu färben und schuf damit die Grundlage für alle späteren Tuberkelbazillenfärbungen.

In der Sitzung des Berliner Vereins für innere Medizin vom 1. Mai[6]) gab er die Methode genau bekannt:

„Ich verfahre derart, daß ich mittels Präpariernadeln aus dem Sputum ein Partikelchen herausnehme und zwischen zwei Deckgläsern platt presse. Es ist zweckmäßig, Deckgläser von bestimmter Dicke zu nehmen, und habe ich gefunden, daß solche von 0,10 bis 0,12 mm. am empfehlenswertesten sind. Es gelingt unter diesen Bedingungen leicht, aus dem kleinen Pfropf des Sputums gleichmäßige dünne Lagen zu erhalten. Man zieht dann beide Gläser auseinander und bekommt zwei dünne Schichten, die leicht lufttrocken werden. Diese Präparate sind noch nicht recht geeignet. Es ist zweckmäßig, das Eiweiß zu fixieren. Ich selbst habe gewöhnlich dies dadurch bewirkt, daß das Präparat durch eine Stunde auf 100 bis 110° erhalten wird, jedoch gibt es für die Praxis ein zweckmäßigeres Verfahren, dessen Anwendung ich im Kaiserlichen Gesundheitsamte gesehen habe und das darin besteht, daß man das lufttrockene Präparat mittels einer Pinzette dreimal durch die Flamme eines Bunsenschen Gasbrenners zieht.

Für die Färbung verwende ich ein mit Anilinöl gesättigtes Wasser, das sich durch Schütteln von Wasser mit überschüssigem Anilinöl und Filtrieren durch ein angefeuchtetes Filter binnen wenigen Minuten herstellen läßt.

---

[6]) Deutsche med. Wochenschr., H. 19, 269, **1882** [*14*]. Vgl. auch ebenda, H. 26, 365, **1882** [*15*] und Berlin. klin. Wochenschr. S. 13, **1883** [*18*].

Der so gewonnenen wasserklaren Flüssigkeit fügt man tropfenweise von einer gesättigten alkoholischen Fuchsin- oder Methylviolettlösung so lange hinzu, bis eine deutliche Opaleszenz der Flüssigkeit eintritt, die die Sättigung mit Farbstoff anzeigt. Auf dieser Flüssigkeit läßt man die Präparate schwimmen und sieht sie binnen ¼ bis ½ Stunde intensiv in dem betreffenden Farbton sich anfärben. Die isolierte Tinktion der Tuberkulosebazillen gelingt nun unter dem Einfluß des Vesuvin gar nicht oder nur sehr langsam, es ist erforderlich, Säuren anzuwenden, und bin ich bald zur Anwendung starker, ich möchte sagen, heroischer, übergegangen. Am meisten empfiehlt sich ein Säuregemisch, das aus 1 Volumen offizineller Salpetersäure und 2 Voluminibus Wasser besteht.

Es empfiehlt sich, den Untergrund anzufärben und zwar, wenn das Präparat violett ist, gelb, wenn es rot ist, blau.

Es ist mir gelungen, den Bazillus in allen basischen Anilinfarben, selbst in Bismarckbraun anzufärben, und ergibt sich hieraus, daß die Substanz des Bazillus selbst sich in ihren färberischen Eigenschaften nicht von denjenigen der anderen Bakterienarten unterscheidet. Wenn nun aber dennoch der Tuberkulosenbazillus sich durch die Färbung von allen anderen Pilzen unterscheidet, so beruht dies auf dem Vorhandensein einer Hülle, der eigentümliche und spezifische Eigenschaften zukommen."

Welche praktische Bedeutung R. Koch der Ehrlichschen Tuberkelbazillenfärbung zugeschrieben hat, geht aus seinen Worten, die einer Arbeit aus dem Jahre 1883 entnommen sind (Dr. R. Koch, Kritische Besprechung der gegen die Bedeutung der Tuberkelbazillen gerichteten Publikationen. Deutsche medizinische Wochenschrift, 1883, Nr. 10), hervor:

„Es hatte sich bald herausgestellt, daß mit Hilfe des Ehrlichschen Färbungsverfahrens der Nachweis der Tuberkelbazillen diagnostisch bequem zu verwerten sei, und allein diesem Umstand ist es zu danken, daß man sich allgemein mit dem Aufsuchen der Bazillen im Sputum beschäftigt hat, während sich sonst wohl nur wenige Forscher mit den Tuberkelbazillen befaßt haben würden."

Im folgenden Jahr fand im Verein für innere Medizin eine „Diskussion über die gegen R. Kochs Entdeckung des Tuberkelbazillus neuerlichst hervorgetretenen Einwände"[7]) statt, bei der Ehrlich das Referat hatte. Bei dieser Diskussion, welche historisch interessant ist, vertrat Ehrlich den heute noch gültigen Standpunkt der Bedeutung des Tuberkelbazillus gegenüber mancherlei Angriffen. Besonders wendet er sich gegen eine Broschüre von Spina und weist ausführlich auf die Fehler der Spinaschen Technik hin. Auch gegen Ziehl, der gegen die Ehrlichsche Hüllentheorie Einwendungen gemacht hatte, tritt er auf und weist darauf hin, daß gefärbte Tuberkelbazillen auch durch langen Aufenthalt in doppelt

[7]) Deutsche med. Wochenschr., H. 11, 159, **1883** und Zeitschr. f. klin. Medizin, **VI**, 574, **1883** [*21*].

schwefligsaurem Natrium nicht zu entfärben seien. Nur allmählich entständen rote körnchenartige Gebilde, über deren Natur er sich nicht äußert. Schließlich betont er wiederum gegenüber Guttmann die Bedeutung dünner Präparate und kurzer Salpetersäureentfärbung.

In der Gesellschaft der Charité-Ärzte am 30. April 1885[8]) stellte Ehrlich einen Kranken mit tuberkulösem Lippengeschwür vor. Das Geschwür saß an der Lippenkommissur und ging auf die Wangenfläche über; es war durch Verletzung mit einem Löffel entstanden und betraf einen Patienten mit bestehender Lungentuberkulose. Im Geschwür fanden sich, auch in Schnitten, ungeheure Mengen von Tuberkelbazillen. Ehrlich stellte den Fall vor, weil tuberkulöse Lippengeschwüre damals noch außerordentlich seltene Fälle waren.

Auf eine weitere Arbeit[9]) Ehrlichs über die Tuberkelbazillenfärbung sei noch genauer eingegangen, weil sie Wenigen im Original bekannt sein wird.

Einleitend konstatiert Ehrlich mit Genugtuung, daß seine Tuberkelbazillenfärbung Eingang gefunden hat, und daß auch Modifikationen und weitere Fortschritte, wie z. B. die Gramfärbung aus seinem Anilinprozeß hervorgegangen sei. Gegenüber Angriffen von Ziehl betont er, daß er die Karbolsäurefärbung in einer Sitzung der Physiologischen Gesellschaft schon vor diesem besprochen habe. Er sieht das färbende Prinzip der Anilinmethode in der entstehenden Trübung und hält deshalb nur solche Stoffe für färberisch wirksam, die mit dem Farbsalz (nicht mit der Farbbase) eine unlösliche, ölig sich abscheidende Verbindung geben. Außerdem hat das Anilin (ebenso wie das Phenol) noch die Rolle, die von ihm supponierte Hülle durchgängiger zu machen. An seiner Hüllentheorie, welche Angriffe erfahren hatte, hält er in etwas modifizierter Weise fest und stellt folgende Sätze auf:

1. Die Bazillenhülle wird durch den Einfluß von Alkalien, Anilin, Phenol durchgängiger.

2. Starke Mineralsäuren durchdringen die Hülle relativ langsam.

3. Die unter dem Einfluß der Säure stehende Membran ist für komplexere Moleküle fast vollkommen undurchgängig.

Im weiteren bespricht Ehrlich die Färbung der Tuberkelbazillen in rein wäßrigen bzw. schwachsauren kalten Lösungen, Schon andere Autoren hatten Färbungen von Tuberkelbazillen in rein wäßrigen Fuchsinlösungen erhalten, aber das trifft nur für eine kleine Zahl der Tuberkelbazillen zu, eben für jene, deren Hülle noch nicht völlig ausgebildet ist.

[8]) Berl. klin. Wochenschr., S. 665, **1885** [*29*].

[9]) Charité-Annalen, **XI**. 123, **1886** [*38*].

Aber hiervon ausgehend, hat Ehrlich mit Hilfe des Prinzips der Farbverdrängung Doppelfärbungen und auch dreifache Färbungen in Tuberkelbazillenpräparaten erreicht, in denen er neben den typisch gefärbten Tuberkelbazillen auch die mit rein wäßrigen Lösungen färbbaren zur Anschauung bringt:

„Die Vermutung liegt nahe, daß die leicht durchgängigen Formen den Zuständen des jungen Bazillus entsprechen, und daß die Hülle, die gewissermaßen mit der Rinde des Baumes zu vergleichen ist, allmählich sich mit den Stoffwechselprodukten des Bazillus inkrustiert, die ihre Durchgängigkeit immer mehr und mehr herabsetzen. Die erste charakteristische Eigenschaft, welche die Hülle in der Entwicklung ihrer Zustandsänderungen erhält, ist der Widerstand gegen starke Mineralsäuren, und beruht die klinische Diagnostik der Bazillen ausschließlich hierauf. Möglich und wahrscheinlich ist es, daß Bazillen in ihren ersten Jugendformen auch durch Säuren leicht entfärbt werden; jedoch können wir diese Formen nach den bis jetzt üblichen Methoden nicht zur Wahrnehmung bringen, und ist es daher nicht ausgeschlossen, daß bei der jetzigen Behandlungsweise ein Teil und zwar der jüngste der Bazillen unserer Beobachtung entgeht. Es würden sich vielleicht hierdurch manche auffällige Befunde, spärliches Vorkommen bei Miliartuberkulose usw. in ungezwungener Weise erklären lassen."

Ehrlich kommt dann auf die Nachfärbung in typischen Tuberkelbazillenpräparaten zu sprechen und empfiehlt, bei diffizilen Objekten (hämorrhagischen, dicken Schichten, Parenchymfetzen) von jeder Nachfärbung abzusehen.

Da ferner bei der Nachfärbung im Auge zu behalten ist, daß ein Teil der Tuberkelbazillen auch für wäßrige, sogar für schwachsaure Lösungen, also für die Nachfarbe, durchgängig ist, so empfiehlt er:

„1. die Zeit der Nachfärbung nach Möglichkeit abzukürzen,
2. die Färbeflüssigkeit leicht durch Essigsäure anzusäuern und
3. solche Farbstoffe zu wählen, die an und für sich nicht imstande sind, in wässerigen Lösungen Bazillen anzufärben, also Methylenblau nach Fuchsin, Bismarckbraun nach Methylviolett."

Er warnt übrigens vor dem Malachitgrün für diese Zwecke.

Auch einige kleine technische Handgriffe gibt er an; so bedient er sich z. B. nicht der Mikroskopiernadel zum Herausfischen der Sputumkerne, sondern „des Federhalters und halbseitig durchbrochener Schreibfedern, mit denen man leicht alle Teile isolieren und zur gewünschten Größe zerschneiden kann."

Als Farbe empfiehlt er das Anilinfuchsin (2 bis 4 Stunden), als Entfärbungsmittel Salpetersäure, die mit zwei Teilen einer gesättigten Sulfanilsäurelösung versetzt ist, um dadurch die etwa entstehende salpetrige Säure zu binden. Er entfärbt kurz mit darauffolgender Wasserspülung und wiederholt die Prozedur viermal und öfters bis zu zehnmal, bis eben so gut wie

vollkommen entfärbt ist. Es folgt die kurze Nachfärbung mit dünnem Methylenblau und schließlich das Einlegen in seinen durch Erhitzen verdickten Kanadabalsam. Auf diese Weise hat er in einigen Präparaten noch nach 3 Jahren wohlerhaltene Tuberkelbazillen gesehen. Übrigens hält er nicht für jeden typischen Schwindsuchtsfall ein so rigoroses Verfahren für erforderlich, sondern empfiehlt es hauptsächlich für Fälle mit spärlichem Befunde.

Schließlich beschreibt er sein Vorgehen bei der Untersuchung von tuberkulösen Geschwüren, Gelenkgranulationen usw., in denen die Gewebsfragmente nicht in so dünner Schicht ausgebreitet werden können, wie es für die Salpetersäuremethode erforderlich ist. Das Verfahren, das ihm in einem sehr strittigen Fall von tuberkulösem Zungengeschwür sofort Erfolg gegeben hat, ist folgendes: Die Geschwürfläche wird gut gereinigt, und es wird dann mit einem Skalpell ein Teil der Granulationen abgenommen und auf Deckgläsern ausgebreitet:

1. Behandlung der Präparate mit wäßriger Fuchsinlösung durch 24 Stunden.

2. Fuchsinanilin durch 24 Stunden.

3. Kurzes Spülen mit Alkohol, um die oberflächliche, anhaftende Anilinschicht zu eliminieren, welche die später notwendige Diffusion erschweren würde, oder:

Kurze Behandlung mit Sulfanilsalpetersäure und energisches Waschen mit Wasser.

4. Einlegen der noch mit intensiv rotem Gewebsparenchym bedeckten Deckgläschen in eine konzentrierte Natriumbisulfidlösung durch 24 bis 36 Stunden.

5. Einlegen in eine Schale kurz vorher gekochten Wassers, in dem das überschüssige Sulfid, das durch Kristallbildung stört, durch Diffusion entfernt wird.

6. Trocknen der Präparate und ohne Nachfärben in Kanadabalsam zu untersuchen.

Die Frage des Befundes von Tuberkelbazillen im strömenden Blute, die ja jetzt wieder so viel diskutiert worden ist, streift er (gemeinsam mit P. Guttmann) in der „Entgegnung auf die Mitteilung über Tuberkelbazillen im Blut nach Kochschen Injektionen“[10]).... „Wir haben diese Untersuchungen an 29 mit Kochschen Injektionen behandelten Lungentuberkulösen wiederholt.... Das Ergebnis war durchaus negativ; in keinem einzigen Präparate wurden Tuberkelbazillen gefunden.“

Diese Arbeit gehört bereits zu den Publikationen über das Tuberkulin,

[10]) Deutsche med. Wochenschr., H. 6, 251, **1891** [*176*].

für das er von Anfang an ein außerordentliches Interesse gehabt hat. Es ist jetzt durch Ehrlichs Aufsatz in der Deutschen med. Wochenschrift[11]) allgemein bekannt geworden, daß, als er sich selbst bei seinen Studien über den Tuberkelbazillus infiziert hatte und reichlich Tuberkelbazillen im Sputum aufwies, nicht nur nach Ägypten ging, um Heilung zu suchen, sondern sich auch später mit Tuberkulin behandeln ließ. Die Tuberkelbazillen sind dauernd aus seinem Auswurf verschwunden.

Zusammen mit Guttmann gab er zuerst die Verabreichung kleiner Tuberkulindosen an[12])[13]). Während bis dahin 1 mg als Anfangsdosis gegeben wurde, empfahlen die beiden Autoren $^1/_{10}$ mg zu geben und jeden Tag um $^1/_{10}$ zu steigen bis am 10. Tag 1 mg erreicht sei. Alsdann wurde mit eintägiger Pause und einer Steigerung um je $^2/_{10}$ mg weiter vorgegangen usw. Auch einen anderen Typus, den intermittierenden, gaben sie an. Mit diesem Vorgehen sollten die starken Fieberreaktionen vermieden werden. Man ist heute wohl allgemein zu diesem Prinzip übergegangen.

Dem bald danach einsetzenden, über das Ziel weit hinausschießenden Skeptizismus gegenüber dem Tuberkulin trat Ehrlich in London 1891 in einem Vortrage[14]) entgegen. Er betont, daß die ungünstigen Schlüsse, die auf Grund der pathologisch-anatomischen Befunde gezogen worden waren, nicht auf das Wesen, sondern nur auf die Art der Anwendung des Tuberkulins zu beziehen seien, er hebt die günstigen Resultate einer kombinierten Therapie von Arznei und Tuberkulin hervor und gibt seiner festen Überzeugung von dem großen Werte des Mittels Ausdruck. Interessant ist seine Vorstellung von dem Wesen der Tuberkulinwirkung:

„Im Vordergrunde aller Erklärungsversuche muß die Tatsache stehen, daß das Tuberkulin nicht den Tuberkel selbst, sondern das in seiner nächsten Umgebung gelegene Gewebe angreift. In dieser Beziehung ist, meines Wissens zuerst von Biedert, betont worden, daß der prinzipielle Unterschied zwischen dem von außen eingeführten und von Bazillen erzeugten Tuberkulin darin zu suchen sei, daß jenes die Herde von der Peripherie angreift, dieses vom Zentrum aus. Man könnte noch einen Schritt weitergehen und annehmen, daß die in die Zusammensetzung des eigentlichen Tuberkelknötchens eintretenden Zellen als unter dem steten Einfluß der Stoffwechselprodukte stehend selbst eine gewisse erhöhte Immunität erworben haben, während eine schalenförmig den Tuberkel umgebende Zone des Diffusionsgebietes das entgegengesetzte Verhalten zeigen muß. An diesen Stellen, denen wir, wie dem Hautsystem tuberkulöser Meerschweinchen, eine erhöhte Empfänglichkeit vindizieren müssen, ist der Angriffspunkt des Tuberkulins. Hier treten

[11]) Deutsche med. Wochenschr., H. 50, **1913** [*152*].
[12]) Deutsche med. Wochenschr., H. 10, 373, **1891** [*177*].
[13]) Deutsche med. Wochenschr., H. 24, 793, **1891** [*178*].
[14]) 7. Internat. Kongreß f. Hygiene, London, **II**, 211, **1891** [*51*].

die entzündlichen Erscheinungen, die Transsudation des Blutserums usw. zunächst ein, die an erster Stelle dem Tuberkelknoten und seinen peripherischen Schichten zugute kommen müssen. Unter diesen Umständen wird in vielen Fällen durch den regeren Stoffaustausch ein Teil der in dem Tuberkel sozusagen festgelegten Stoffwechselprodukte nach außen geführt und so eine von innen heraus erfolgende Verstärkung der Tuberkulinwirkung erzielt werden."

Durch dieses reaktive Freiwerden des im Tuberkel aufgespeicherten Tuberkulins erklärt Ehrlich eine Reihe scheinbar paradoxer Erscheinungen, so z. B., daß kleine Tuberkulinmengen gelegentlich so starke Reaktionen hervorrufen, und die weitere Erscheinung bei der Endbehandlung, daß eine Dosis eine Reaktion hervorruft, während die gleiche am nächsten oder übernächsten Tage nachgeschickte Injektion ohne Erfolg bleibt.

Seit dieser Zeit liegen bakteriologische Arbeiten mit Ehrlichs Namen nicht mehr vor, und während der Zeit des Beginnes der Immunitätsforschungen ruht die Produktion auf diesem Gebiete. Erst nach Eröffnung des Königlichen Institutes für Serumprüfung und Serumforschung in Steglitz erscheint wiederum eine bakteriologische Arbeit. Sie stammt von dem Mitglied des Instituts, Herrn Stabsarzt Dr. Bonhoff[15]). Es war die heikle Frage aufgetaucht, ob etwa bei latentem Pferderotz die Rotzbazillen mit dem Diphtherieserum übertragen werden könnten. Ehrlich war immer dafür eingetreten — entgegen manchen Stimmen —, nur das mit 0,5% Karbol versetzte Diphtherieserum zuzulassen, was denn auch für Deutschland festgesetzt wurde und heute noch in Geltung ist. Es erhob sich die Frage, ob dieser Karbolzusatz ausreichend sei, etwa vorhandene Rotzbazillen abzutöten. Bonhoff stellte zunächst in Übereinstimmung mit den Angaben der Literatur fest, daß zwar im Rotzkadaver im Blute reichlich Rotzbazillen zu finden, daß sie aber im Blute des lebenden rotzkranken Pferdes nur spärlich nachweisbar seien; im Serum zweier rotzkranker Pferde waren sie auch mittels Tierversuch nicht zu finden. Außerdem stellte Bonhoff experimentell fest, daß der 0,5%ige Karbolgehalt bei 24 stündiger Einwirkung genügt, um große Mengen künstlich zugesetzter Rotzbazillen mit Sicherheit abzutöten. Da das Serum der Einwirkung des Karbols wochen- und monatelang ausgesetzt ist, ehe es in den Handel kommt, so ist die Gefahr der Rotzübertragung auszuschließen.

Im Jahre 1900 beginnen die Arbeiten der bakteriologischen Abteilung des Königlichen Instituts für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M.; sie behandeln zum Teil die Immunitätsprobleme, soweit sie einer

[15]) Berl. klin. Wochenschr., H. 5, 89, **1897** [*31g*].

bakteriologischen Bearbeitung zugänglich sind. Das von M. Neißer und Wechsberg zuerst beobachtete und mit Hilfe der Ehrlichschen Seitenkettenlehre erklärte Phänomen der Komplementablenkung in vitro behandeln die Arbeiten von M. Neißer und Wechsberg[16]), Wechsberg[17])[18]), Lipstein[19]), Shiga[20]). Es wurde in diesen Arbeiten gezeigt, daß im bakteriziden Reagenzglasversuche, dessen Technik angegeben wurde (vgl. M. Neißer[21])), das Verhältnis von Immunserum und Komplement für die abtötende Wirkung des Gemisches von Bedeutung ist, in dem Sinne, daß ein Überschuß von Immunserum die bakterizide Wirkung aufhebt. Durch Absorptionsversuche konnte auch gezeigt werden, daß es der Gehalt des Immunserums an Ambozeptoren ist, der das Phänomen entstehen läßt. Die Erklärung durch M. Neißer und Wechsberg war mit der Bordetschen Sensibilisierungsvorstellung unvereinbar, da nicht einzusehen war, warum durch ein Mehr der sensibilisierenden Substanz deren Wirkung verringert werden sollte. Wenn man aber bei der Verankerung der Ambozeptoren an das Bakterium oder aber bei der Verankerung der Ambozeptoren an das Komplement eine Verringerung der Avidität oder aber wenigstens keine Aviditätssteigerung — wie sie bei der Hämolyse anzunehmen war — supponierte, dann ergab sich die Erklärung dieser Hemmung durch Überschuß leicht. Von dieser Zeit an haben übrigens die hier zuerst beschriebenen unregelmäßigen Reihen bei Reagenzglasversuchen über Immunitätserscheinungen die Aufmerksamkeit der bakteriologischen Abteilung in mehrfacher Hinsicht gefunden. So wurden in der Arbeit von Loeb[22]) bei Fermenten derartige unregelmäßige Reihen beobachtet, sie wurden bei der Agglutination[23]) beschrieben und erklärt und fanden ganz besonders eingehende experimentelle Beachtung in den Arbeiten von M. Neißer und Friedemann[24])[25]). In den oben erwähnten Arbeiten über die Komplementablenkung wurde auch die Gültigkeit der Ehrlichschen Annahme der Pluralität der Komplemente für das Gebiet der bakteriziden Komplemente bestätigt. Ehrlich hatte ja zuerst den anfangs verwirrend erscheinenden Gedanken der außerordentlichen Mannigfaltigkeit der Antikörper im normalen Serum

[16]) Münch. med. Wochenschr., H. 18, **1901** [*490*].
[17]) Wien. klin. Rundschau, H. 41, **1901** [*602*].
[18]) Zeitschr. f. Hyg., **XXXIX**, 171, **1902** [*603*].
[19]) Centralbl. f. Bakt., **XXXI**, 460, **1902** [*408*].
[20]) Zeitschr. f. Hyg., **XLI**, 355, 1902 [*582*].
[21]) P. Ehrlich, Ges. Arbeiten zur Immunitätsforschung, S. 493, **1904** [*469*].
[22]) Centralbl. f. Bakt., **XXXII**, 471, **1902** [*411*].
[23]) l. c. [20].
[24]) Münch. med. Wochenschr., H. 11, **1904** [*478*].
[25]) Münch. med. Wochenschr., H. 19, **1904** [*479*].

ausgesprochen, wie auch in der Arbeit von M. Neißer[26]) ausführlicher erörtert wurde. In dieser Arbeit wurde gegenüber einer unitarischen Auffassung von Kraus bezüglich einiger normaler Antihämolysine die Differenzierung des im normalen Pferdeserum vorkommenden Antitetanolysins vom Antistaphylolysin experimentell durchgeführt. Ehrlichsche Vorstellungen über die normalen Antikörper behandelt auch ein Vortrag[27]), der die Verwendbarkeit der normalen Antikörper als Indikatoren für die normale und abnorme Beschaffenheit der Sera hervorhebt. In diesen Gedankenkreis fällt auch eine Dissertation von Müller[28]), in der eine Anzahl verschiedener Normalagglutinine in verschiedenen Seris beschrieben werden, wobei auch die Verschiedenheit des Blutes ausgewachsener und junger Tiere ihre experimentelle Berücksichtigung findet.

Vom bakteriologischen Standpunkte aus wurde die damals im Vordergrund stehende Seitenkettenlehre auch in der Arbeit von M. Neißer und Lubowski[29]) bearbeitet. Sie zeigt, daß bei richtiger Versuchsanordnung die Agglutininproduktion — entsprechend der theoretischen Voraussetzung — gewöhnlich ausbleibt, wenn man ein Antigen zur Injektion verwendet, dessen Rezeptoren mit dem Antikörper völlig abgesättigt und daher unwirksam sind.

Eine Reihe weiterer Arbeiten der Abteilung haben zwar die Seitenkettenlehre nicht eigentlich zum Thema, behandeln aber verschiedene Gebiete der Immunitätslehre naturgemäß unter Berücksichtigung dieser heuristisch so fruchtbaren Theorie. Mit dem Staphylotoxin beschäftigt sich die Arbeit von M. Neißer und F. Wechsberg[30]), in der die Ehrlichschen Prinzipien der Toxinuntersuchung und Toxinlehre auf dieses Bakterienprodukt, das damit als Toxin erwiesen werden konnte, angewendet wurden. Und zwar wurden die zwei giftigen Anteile, das Hämolysin und das Leukozidin gesondert untersucht. Für das Hämolysin wurden normale Antikörper im menschlichen Serum gefunden, und es wurde auf Grund von Untersuchungen als wahrscheinlich hingestellt, daß man durch quantitative Auswertung des Antistaphylosingehaltes zur Diagnose chronischer Staphylomykosen gelangen würde — eine Voraussage, die durch eine Anzahl neuerer Untersuchungen bestätigt worden ist. Auch die Arbeit von Nöggerath[31]) ist hier zu erwähnen.

[26]) Deutsche med. Wochenschr., H. 49, **1900** [*466*].
[27]) Wien. med. Wochenschr., H. 48/49, **1900** [*465*].
[28]) I.-D. Bern **1901** [*459*].
[29]) Centralbl. f. Bakt., **XXX**, 483, **1901** [*481*].
[30]) Zeitschr. f. Hyg., **XXXVI**, 299, **1901** [*489*].
[31]) Charité-Annalen **XXXII**, 93, **1908** [*492*].

Über das Diphtherieantitoxin handelt die Arbeit von Sacharoff[32]), in der — vor dem Bekanntwerden der Anaphylaxieerscheinungen — gezeigt werden konnte, wie verschieden Tiere, die mit normalem Pferdeserum vorbehandelt waren, auf die nachfolgende Einverleibung von Diphtherieantitoxin gegenüber unvorbehandelten Tieren reagieren. Andeutungen ähnlicher Unterschiede in der Reaktionsfähigkeit von „sensibilisierten" und „nichtsensibilisierten" Menschen hatten übrigens schon Shiga[33])[34]) und Neißer-Shiga[35]) mitgeteilt.

Eine Reihe von Arbeiten betreffen die Agglutination, sowohl die Methodik (Pröscher[36]), Marks[37]), ihre Ausdehnung auf weitere Bakterienarten (Lubowski[38]), Lipstein[39])[40]), die Aufdeckung besonderer mit Hilfe Ehrlichscher Vorstellungen unschwer erklärbarer Erscheinungen (Müller, l. c. [28]), Shiga, l. c. [20]), Böhme[41]), Massini[42]), Moreschi[43]), Schultz[44]) Seiffert[45]), wie auch die Erklärung des Agglutinationphänomens, die in den Arbeiten von M. Neißer und U. Friedemann (l. c. [24])[25]), vgl. auch M. Neißer, Vortrag im ärztlichen Landesverein, Braunschweig 1904) versucht wurde. Hierbei wurde ein weiter Exkurs in das damals noch fast ganz unbebaute kolloid-chemische Gebiet nötig (vgl. hierzu auch Bechhold[46]).

Die Bordet-Gengousche Komplementbindungsreaktion wurde reichlich bearbeitet. In den Arbeiten von M. Neißer und H. Sachs[47—50]) erfolgte die wichtige Übertragung dieses Prinzips auf das Gebiet des forensischen Eiweißnachweises, in der Arbeit von Seiffert[51]) die Anwendung auf den Bordetschen Keuchhustenbazillus, in der Arbeit von

[32]) Centralbl. f. Bakt., **XXXIX**, 99, **1905** [*532*].
[33]) l. c. [20].
[34]) Berl. klin. Wochenschr., H. 4, **1904** [*584*].
[35]) Deutsche med. Wochenschr., H. 4, **1903** [*487*].
[36]) Centralbl. f. Bakt., **XXXI**, 400, **1902** [*507*].
[37]) Arb. aus dem kgl. Institut f. exper. Therapie, H. 4, 45, **1908** [*423*].
[38]) Zeitschr. f. Hyg., **XXXV**, 87, **1900** [*412*].
[39]) Deutsche med. Wochenschr., H. 46, **1902** [*409*].
[40]) Centralbl. f. Bakt., **XXXIV**, 421, 1903 [*410*].
[41]) Zeitschr. f. Hyg., **LII**, 97, **1905** [*302*].
[42]) Centralbl. f. innere Medizin H. 1, **1906** [*437*].
[43]) Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig., **XLVI**, 456, **1908** [*441*].
[44]) Deutsche med. Wochenschr., H. 13, **1909** [*576*].
[45]) Zeitschr. f. Hyg., **LXIII**, 273, **1909** [*581*].
[46]) Zeitschr. f. physikal. Chemie, **XLVIII**, 385, **1904** [*251*].
[47]) Berl. klin. Wochenschr., H. 44, **1905** [*483*].
[48]) Berl. klin. Wochenschr., H. 3, **1906** [*484*].
[49]) Deutsche med. Wochenschr., H. 39, **1906** [*485*].
[50]) Klin. Jahrbuch, **XIX**, 28, **1908** [*486*].
[51]) Münch. med. Wochenschr., H. 3, **1909** [*580*].

Altmann und Schultz[52]) wurden die Antiforminextrakte für diese bakteriologischen Zwecke empfohlen.

Über Opsonine berichteten M. Neißer und Guerrini[53]), die zur experimentellen Untersuchung der Normalopsonine und der bakteriotropen Immunsubstanzen eine neue Technik durchgeführt hatten; außerdem wurde die interessante Tatsache der Leukocytenstimulation experimentell festgestellt.

Außer diesen Arbeiten mit Beziehungen zur Immunitätslehre sind noch andere zu erwähnen. So knüpft eine Arbeit von M. Neißer und Wechsberg[54]) unmittelbar an Ehrlichsche Vorstellungen und Studien an; sie betrifft eine Methode zur quantitativen makroskopischen Bestimmung des schädigenden Einflusses von Substanzen auf lebende Zellen. Setzt man Leukocyten aus einem experimentell gewonnenen Exsudate in abgemessener Menge unter Luftabschluß zu einer dünnen Methylenblaulösung, so wird das Methylenblau durch die Tätigkeit der überlebenden Zellen reduziert; schädigt man die Leukocyten durch Gifte irgendwelcher Art, so bleibt diese Reduktion aus. Es ließen sich so Studien mit dem Staphylokokkenleukozidin anstellen, die in der Arbeit über das Staphylotoxin (l. c.[30]) angeführt sind. Diese „bioskopische Methode" wurde damals auch für gewisse Milchprüfungen empfohlen und hat durch Paul Th. Müller in handlicher Form Anwendung gefunden; übrigens spielt heute die bioskopische Methylenblaureduktionsprobe für die Abwasseruntersuchung eine große Rolle.

Als Schardinger seine Milchreduktionsprobe mit Verwendung von Formalinmethylenblau bekannt gab, veranlaßte Ehrlich die bakteriologische Abteilung, sich mit dieser Reaktion zu beschäftigen. Die in den drei Arbeiten von Smidt[55]), Brand[56]), Oppenheimer[57]) niedergelegten Resultate haben ein umfassendes Bild von den Wesen, der Methodik und der Bedeutung dieser interessanten Probe gegeben, über die jetzt eine ganze Literatur vorliegt.

Auch unter den rein bakteriologischen Arbeiten, die zum Teil methodisch-technischen Inhaltes waren (M. Neißer[58])[59])[60]), Böhme[61]), Marks[62]),

[52]) Zeitschr. f. Immunitätsforschung, **III**, 98, **1909** [*216*].
[53]) Arb. aus dem kgl. Institut f. exper. Therapie, H. 4, 3 **1908** [*480*].
[54]) Münch. med. Wochenschr., H. 37, **1900** [*488*].
[55]) Hyg. Rundschau, H. 23, **1904** [*587*].
[56]) Münch. med. Wochenschr., H. 17, **1907** [*320*].
[57]) Arbeiten aus dem kgl. Institut f. experimentelle Therapie, H. 4. 73, **1908** [*495*].
[58]) Hyg. Rundschau, H. 14, **1903** [*467*].
[59]) Deutsche Ärztezeitung, H. 1, **1905** [*472*].
[60]) Arbeiten aus dem kgl. Institut f. experimentelle Therapie, H. 4, 51, **1908** [*476*].
[61]) Deutsche med. Wochenschr., H. 40, **1905** [*303*].
[62]) Arb. aus dem kgl. Institut f. exper. Therapie, H. 4, 29, **1908** [*420*].

Gins[63]) befindet sich eine Arbeit von Böhme[64]), welche auf direkte Initiative von Ehrlich zurückzuführen ist; sie betrifft die Übertragung der Ehrlichschen Dimethylamidobenzaldehydreaktion auf die Bakteriologie, die damit eine außerordentlich brauchbare Indolreaktion für bakteriologische Zwecke geworden ist.

Außerdem liegen bakteriologisch-systematische oder -kasuistische Mitteilungen vor, zumal über die Paratyphusbazillen, Diphtheriebazillen, Influenzabazillen usw. (R. Lubowski[65]), K. Shiga[66]), M. Neißer[67]), H. Smidt[68]), C. Klieneberger[69])[70]), Krahnepuhl[71]), A. Böhme[72]), L. H. Marks[73])[74]), T. Ernst[75]), Eckersdorff[76]), G. Seiffert[77])[78])). Auch ein polemisch-kritischer Aufsatz findet sich (M. Neißer[79])).

Hervorzuheben sind noch einige bakteriologische Arbeiten mit wesentlich allgemeinem biologischem Inhalt, so von M. Neißer[80]), Schultz und Ritz[81]) und zumal die Publikationen über das seitdem so bekannte Bacterium coli mutabile von M. Neißer[82]), R. Massini[83]), in denen es gelang, aus einem ganz reinen und völlig homogenen Bakterienstamme durch Spaltungen Unterschiede der einzelnen Individuen in kürzester Zeit und scheinbar sprunghaft hervorzurufen, die, wenn einmal entstanden, sich durch eine außerordentliche Konstanz auszeichneten. Für diese immer wieder, scheinbar plötzlich auftretenden Abspaltungen anders gearteter und sich in dieser Abart konstant erhaltender Individuen wurde als nächstliegendes Analogon die de Vriessche Mutation, die damit in das Arbeitsgebiet der Bakteriologie eingeführt wurde, angenommen.

[63]) Centralbl. f. Bakt., I., Orig., **LII**, 620, **1909** [*350*].
[64]) Centralbl. f. Bakt., **XL**, 129, **1905** [*301*].
[65]) Deutsche med. Wochenschr., H. 8, **1901** [*413*].
[66]) Deutsche med. Wochenschr., H. 7, **1903** [*583*].
[67]) Deutsche med. Wochenschr., H. 26, **1903** [*468*].
[68]) Centralbl. f. Bakt., **XXXVIII**, 24, **1905** [*588*].
[69]) Deutsche med. Wochenschr., H. 15, **1905** [*387*].
[70]) Zeitschr. f. ärztliche Fortbildung, H. 17, **1905** [*388*].
[71]) Münch. med. Wochenschr., H. 28, **1905** [*392*].
[72]) l. c. [41].
[73]) Centralbl. f. Bakt., **XLIV**, 370, **1907** [*419*].
[74]) Arb. aus dem kgl. Institut f. exper. Therapie, H. 4, 35, **1908** [*422*].
[75]) Ebenda, H. 4, 57, **1908** [*346*].
[76]) Ebenda, H. 4, 61, **1908** [*343*].
[77]) l. c. [45].
[78]) l. c. [51].
[79]) Centralbl. f. Bakt., **XXXVI**, 671, **1904** [*470*].
[80]) l. c. [67].
[81]) Centralbl. f. Bakt., I., Orig., **LIV**, 283, **1910** [*578*].
[83]) Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Referate, **XXXVIII**, Beih., 98, **1906** [*474*].
[83]) Arch. f. Hyg., **LXI**, 250, **1907** [*438*].

Der Vollständigkeit halber sind noch einige epidemiologisch-statistische Arbeiten (M. Neißer[84–87]), M. Neißer und L. H. Marks[88])) und die Publikationen von M. Neißer[89])[90]) aufzuführen.

Auch nach Aufhören der bakteriologischen Abteilung (1909) ist unter Ehrlich das bakteriologische Feld gründlich bestellt worden. Es konnte nicht ausbleiben, daß die neuen und wichtigen Probleme der Arzneifestigkeit, die Ehrlich bei seinen Trypanosomenstudien gefunden hatte, auch bei Bakterien studiert wurden. So hat L. H. Marks[91]) über einen zur Paratyphusgruppe gehörigen Bakterienstamm berichtet, den er im Laufe von 3 Jahren durch ganz allmähliche Steigerung des Arzneistoffes gegen arsenige Säure auf Agar fest gemacht und ihn dadurch befähigt hat, in der achtfach stärkeren Konzentration zu gedeihen, als es dem Ausgangsstamm möglich war. Dieser arsenfeste Stamm war in mancher Beziehung bemerkenswert: Er war z. B. auch gegen Antimon fest geworden und zwar verhältnismäßig viel stärker als gegen Arsen, trotzdem er mit Antimon nie in Berührung gekommen war. Auch hatte sich der Stamm deutlich morphologisch, in dem Aussehen seiner Kolonien, in seinem Zuckervergärungsvermögen und auch in seinem agglutinativen Verhalten wesentlich verändert, und zwar nicht nur vorübergehend, sondern — wenigstens nach Erreichung einer maximalen Arsenfestigkeit — so andauernd, daß ihn 90 arsenfreie Passagen nicht zum Ausgangsverhalten zurückbrachten.

Mit Choleravibrionen hat Shiga[92]) gearbeitet, aber nicht mit Arsen, sondern mit Farbstoffen, die er den flüssigen Nährböden zugesetzt hatte. Er gelangte zu viel erheblicheren Festigkeitsgraden als Marks, da er z. B. gegenüber Äthylviolett eine um das 100 fache gesteigerte Toleranz erreichte. Allerdings war die Möglichkeit der Steigerung bei den verschiedenen Farbstoffen sehr verschieden, ein für die Chemotherapie wichtiger Punkt, der darauf hinweist, für chemotherapeutische Zwecke Chemikalien zu verwenden, gegen die eine Steigerung der Tolerierung nicht gelingt.

Von biologischem Interesse ist die Feststellung, daß schon nach 5 Stunden eine deutliche Festigung gegen den zugesetzten Farbstoff nachweis-

---

[84]) l. c. [58].
[85]) Berl. klin. Wochenschr., H. 11, **1904** [*471*].
[86]) l. c. [59].
[87]) Hyg. Rundschau, H. 4, **1906** [*473*].
[88]) Zeitschr. f. Hyg., **LIX**, 123, **1908** [*482*].
[89]) Ebenda, **LIX**, 225, **1908** [*475*].
[90]) Arbeiten aus dem kgl. Institut f. experimentelle Therapie, H. 4, 79, **1908** [*477*].
[91]) Zeitschr. f. Immunitätsforschung, **VI**, 293, **1910** [*425*].
[92]) Ebenda, **XVIII**, 65, **1913** [*585*].

bar ist. Ist die Farbstofffestigkeit nur schwach, so geht sie leicht zurück; ist sie aber einmal maximal, so gelingt es auch durch 25 Passagen nicht, sie rückgängig zu machen. Da die farbstofffesten Cholerastämme durchaus nicht serumfest geworden waren, so entspricht dies Resultat der Ehrlichschen Vorstellung von der Selbständigkeit und Unabhängigkeit der Chemozeptoren und der die Antikörperwirkung vermittelnden Nutrizeptoren; aus derselben Vorstellung folgt auch der Vorteil der Kombination von Chemotherapie und Serotherapie.

Dieses letztere Thema hatten schon vorher andere bakteriologische Arbeiten des Ehrlichschen Instituts behandelt. So hatte Bierbaum[93]) bei seinen Salvarsanheilungsversuchen gegen Milzbrand und Schweinerotlauf gute Resultate erhalten, wenn er sowohl spezifisches Serum, als auch Salvarsan anwandte; Boehncke[94]) fand mit dem Morgenrothschen Äthylhydrokuprein gute Wirkung gegen Pneumokokken, wenn er unterheilende Dosen des spezifischen Serums und des Äthylhydrokupreins verabreichte; er beschrieb[95]) analoge Wirkungen gegenüber Pneumokokken und Schweinerotlaufbazillen bei Kombination von Kampfer und spezifischem Serum.

Die Beziehungen zwischen Serologie und Chemotherapie behandelt auch eine Arbeit von Boehncke[96]), welcher mit Choleravibrionen, Diphtheriebazillen und Meningokokken immunisierte und zwar mit und ohne Verabreichung des Salvarsans und damit eine Steigerung des bakteriziden, des bakteriotropen und des Präzipitationstiters durch Salvarsaneinspritzung feststellte.

Die prüfungstechnische Abteilung des Ehrlichschen Instituts hatte naturgemäß vielfach die Aufgabe, sich mit bakteriellen Fragen zu beschäftigen. Soweit sie ausschließlich die Technik der amtlichen Serumprüfung betreffen (Dönitz, Marx, Schubert, Berghaus, Boehncke, Bierbaum), werden sie andernorts besprochen werden. Hier sei nur die Arbeit von Boehncke[97]) erwähnt, welche die Methodik des bakteriotropen Reagenzglasversuches zum Gegenstand hat und eine weitere Arbeit desselben Autors[98]), welche (in Übereinstimmung mit einer früheren Arbeit von H. Braun, Zeitschr. f. Immunitätsforschung 1911, Bd. IX) an bakteriziden Reagenzglasversuchen mit Choleravibrionen zeigt, daß die Kon-

[93]) Deutsche med. Wochenschr., H. 43, **1912** [*296*].
[94]) Münch. med. Wochenschr., H. 8, **1913** [*309*].
[95]) Berl. klin. Wochenschr., H. 18, **1913** [*310*].
[96]) Zeitschr. f. Chemotherapie, **I**, 136, **1912** [*307*].
[97]) Centralbl. f. Bakt., **LXVII**, 586, **1913** [*311*].
[98]) Zeitschr. f. Immunitätsforschung, **XIII**, 240, **1912** [*305*].

stitution des bakteriziden Komplementes die gleiche ist, wie die des hämolytischen Komplementes.

Auch die neueren Probleme der Immunitätslehre, zumal die Anaphylatoxinforschung wurden im Ehrlichschen Institut an Bakterien bearbeitet; sie werden an anderer Stelle im Zusammenhang besprochen werden. Hier sei nur erwähnt, daß Ritz und Sachs[99])[100]) mit Prodigiosus- und Metschnikoff-Anaphylatoxin, Boehncke und Bierbaum[101–104]) mit Prodigiosus-, mit Schweinerotlauf- und Milzbrand- sowie Boehncke[105]) mit Meningokokkenanaphylatoxin gearbeitet haben.

Auch im Speyer-Haus wurden bakteriologische Themata behandelt. So haben Yakimoff und Kohl-Yakimoff[106]) gezeigt, daß die giftige Wirkung des Salvarsans, zumal bei mit Trypanosomen infizierten Tieren, durch Zugabe von Koliendotoxin stark, durch Zugabe von Endotoxinen anderer Bakterien weniger oder gar nicht gesteigert werden kann. Es sollte damit eine experimentelle Grundlage für das Verständnis des für die Salvarsananwendung so bedeutungsvollen „Wasserfehlers" gegeben werden.

Aus dem außerordentlichen Umfange und aus der Vielseitigkeit der auf dem bakteriellen Gebiete liegenden Arbeiten Ehrlichs und seiner Mitarbeiter geht Ehrlichs großes Interesse für die Bakteriologie hervor, der er neue Gebiete erschlossen und weitreichende Anregungen gegeben hat. Mit bakteriologischen Problemen ist er von Anfang seines wissenschaftlichen Wirkens an bis auf den heutigen Tag beschäftigt, und selbst zu Zeiten, da ihn nur das Karzinom und die Trypanosomen zu interessieren schienen, hat er die bakteriellen Fragen nicht aus dem Auge verloren, wie aus seiner Harben lecture[107]) hervorgeht. Hat er doch gerade diese Gebiete nach bakteriologischen Grundsätzen bearbeitet.

[99]) Berl. klin. Wochenschr., H. 22, 987, **1911** [*522*].
[100]) Centralbl. f. Bakt., Referate, **L**, Beih., 73, **1911** [*523*].
[101]) Centralbl. f. Bakt., **LXV**, 504, **1912** [*314*].
[102]) Zeitschr. f. Immunitätsforschung, **XIV**, 130, **1912** [*315*].
[103]) Berl. tierärztliche Wochenschr., H. 19, **1912** [*299*].
[104]) Zeitschr. f. Infektionskrankheiten der Haustiere, **XII**, 159, **1912** [*298*].
[105]) Zeitschr. f. Hyg., **LXXII**, 305, **1912** [*308*].
[106]) Münch. med. Wochenschr., H. 49, **1911** [*606*]. H. 3, **1912** [*607*].
[107]) Vgl. Beiträge zur experimentellen Pathologie und Chemotherapie, 50. Leipzig **1909** [*100*].

7.

# Protozoenstudien.

Von

**R. Gonder,**

Frankfurt a. M.

Die großen Arbeiten Ehrlichs und seiner Institute auf dem Gebiete der Immunität und Zellforschung und vor allem der in den letzten Jahren immer erfolgreicher aufstrebenden Chemotherapie bereicherten unsere Protistenkunde um ungemein wertvolle Beiträge. Abgesehen von einigen rein morphologischen und entwicklungsgeschichtlichen Studien und experimentellen Übertragungsversuchen liegen die wesentlichsten und hervorragendsten Protozoenarbeiten auf dem therapeutischen Gebiet und betreffen die biologischen Eigenschaften protozoischer Krankheitserreger. Ehrlich bezeichnete selbst dieses Spezialstudium, das sich einerseits mit den rein biologischen Verhältnissen der pathogenen Protozoen oder, besser gesagt, Protisten und andererseits mit den Beziehungen zwischen Kern und Plasma der Parasitenzelle zu den Heilsera oder chemischen Heilmitteln beschäftigt, als die „therapeutische Biologie". Bei dem großen Umfang dieses Studiums und bei den komplizierten Verhältnissen vieler pathogener Protozoen, besonders der Trypanosomen und Spirochäten ist diese therapeutische Biologie heute schon eine Spezialwissenschaft geworden. Die Arbeiten Ehrlichs und seiner Schule in dieser Richtung, die ja in erster Linie auf die praktische Bekämpfung der Krankheitsursachen hinzielten, waren für letztere auch von allergrößter Bedeutung. Sie warfen aber auch ein besonderes Licht auf die Anpassungserscheinungen der Parasiten und erschlossen uns neue Wege auf dem Gebiete der Vererbung. Wenn auch heute noch vererbungstheoretische Studien mehr an größeren Lebewesen und an nicht pathogenen Protozoen angestellt werden, so wird es dennoch nicht mehr lange dauern, bis auch pathogene Protozoen herangezogen werden, um an ihnen die künstlich und bewußt mit be-

kannten chemischen Mitteln oder auch auf serologischem Wege hervorgerufenen Veränderungen im Plasma oder im Kern auf ihre Vererbung zu untersuchen.

### a) Morphologische und entwicklungsgeschichtliche Studien.

S. v. Prowazek[1]) brachte aus dem Institut für experimentelle Therapie 1902 eine kleine Studie über die Entwicklung der Gregarinen aus dem Regenwurmhoden, die über die Kernteilung, Encystierung und Sporenbildung der Gregarinen einige bemerkenswerte Beobachtungen enthält und im wesentlichen die Studien von Wolters und Cuénot bestätigte. Die Kerne der zur Befruchtung schreitenden encystierten Gregarinen verändern sich sehr wesentlich. Es kommt, ehe die Gregarinen sich zur Teilung anschicken, zu einer Ausdifferenzierung der Kerne in kleinere, teilungsfähige Kerne, Geschlechtskerne, und größere streifenartige Kernmassen, somatische Kernmassen, die sich im Protoplasma der Gregarinen zerstreuen. Diese Art der Kerndifferenzierung hat bei den Gregarinen noch nicht die bestimmte Form einer eigentlichen Reduktion, wie sie z. B. von den Infusorien her bekannt ist, sondern ist, wie v. Prowazek meinte, möglicherweise sekundär unterdrückt, wobei später vielleicht von einer Restkörperbildung die Funktion der Reduktion übernommen wurde.

Bei der weiterhin erfolgenden Kernteilung der ausdifferenzierten Geschlechtskerne kommt ein Spindelapparat mit polaren Differenzierungen zustande. Die Zentralspindel scheint sich aus einem sich stärker färbenden Innenkörper (Karyosom) zu entfalten. Ein eigentliches Centrosom oder eine Centriole konnte nicht nachgewiesen werden, so daß der Teilungsvorgang dieser Kerne eine Zwischenstufe von direkten und indirekten Kernteilungen darstellen würde, jedoch sich mehr der mitotischen Teilungsform nähert. Nach einer Reihe immer undeutlicher werdender Kernteilungen, wahrscheinlich der gleichen karyokinetischen Art, die eine große Anzahl kleiner Kerne zur Folge hat, rücken die Kerne gegen die Peripherie hin. Bei den letzten Kernteilungen, bei welchen die chromatoiden Bestandteile (Spindelfasern) in der Äquatorialplatte mehr ringartig angeordnet sind, drängt die Polsphäre des einen Pols der meist tangential liegenden Spindeln buckelartig das Protoplasma heraus, in das der zukünftige Kern des Sporoblasten oder, besser gesagt, Gametocyten, zu liegen kommt und sich vollständig vom immer mehr vakuolisierten Restkörper stielartig abschnürt.

Während der Restkörper der Gregarine immer mehr verflüssigt und aufquillt, kopulieren die oben beschriebenen Gametocyten, in denen auch

[1]) Arch. f. Protistenk., **I**, 297, **1902** [*509*].

kleine Centrosphären beobachtet wurden. Diese Centrosphären, verdichtete Stellen im hellen Plasma, nehmen kahnförmige Gestalt an; das Plasma wird deutlich wabig strukturiert und umgibt sich mit einem sich immer mehr verdichtenden Häutchen, das polar zwei knopfartige Verdickungen erhält. Auf diese Weise kommt die allbekannte Sporocyste zustande, mit der doppelt konturierten Membran.

Auf mitotischem Wege teilt sich der Kern dieser Sporocyste wiederum in zwei polwärts wandernde Tochterkerne, die sich abermals teilen, aber in der Weise, daß die Teilungsspindel quergestellt ist zur vorhergehenden Spindel. Jeder Kern teilt sich dann noch einmal, wobei wiederum eine Drehung der Spindel um 60° gegen die letzte Spindelachse orientiert ist.

Die polartig gelagerten Kernteilprodukte verdichten sich allmählich und rücken gegen die Mitte der Sporocyste, wobei es gleichzeitig zu einer Segmentierung des gemeinsamen Protoplasmas und zur endgültigen Ausbildung der Sporozoiten kommt.

Besonderes Interesse verdient eine Arbeit von W. L. Yakimoff und N. Kohl-Yakimoff[2]) aus dem Georg-Speyer-Haus über einen pathogenen Parasiten, Toxoplasma canis, der zum erstenmal in Deutschland nachgewiesen werden konnte. Toxoplasmen, Parasiten, die vielleicht zu den Hämogregarinen oder auch zu den Coccidien gehören, wurden bisher nur in tropischen und subtropischen Ländern in den Organen von einem Nagetier, Ctenodactylus, von Hund, Kaninchen, Maulwurf und Taube nachgewiesen. Oben genannte Autoren fanden in einem an Hundestaupe zugrunde gegangenen Hund im Knochenmark und in der Milz hauptsächlich — weniger stark waren Lunge, Leber, Nieren und Bronchialdrüsen infiziert — typische halbmondförmige, nach der einen Seite stark zugespitzte, nach der anderen Seite mehr abgerundete und abgestumpfte Parasiten von ca. 4,26 bis 8,52 $\mu$ in der Länge und ca. 1,42 bis 2,84 $\mu$ in der Breite. Außer den halbmondförmigen gebogenen Formen wurden in den Trockenausstrichen auch rundovale Parasiten gefunden und mancherlei Übergangsformen von halbmondförmigen zu ovalen. Die Parasiten besitzen, nach Giemsa gefärbt, ein manchmal dunkelblau, manchmal auch sehr hellblau gefärbtes Protoplasma mit rundem oder ovalem, häufig auch gelapptem oder rosettenförmigem Kern mit Kernkörperchen oder einem gut tingierten Karyosom.

Außer diesen Formen, die sich durch einfache Längsteilung fortzupflanzen scheinen, konnten auch schizogonische Entwicklungsstadien, die sowohl frei als auch intrazellulär vorgefunden wurden, nachgewiesen werden. Im Knochenmark besonders fiel die Zahl der aus der Schizogonie

---

[2]) Arch. f. Protistenk., **XXVII**, 195, **1912** [*608*].

hervorgegangenen Tochterindividuen auf, die den Chromosomen der Kerne entsprachen. Die Schizonten teilen sich in zwei, vier, acht oder auch sechzehn Tochterformen.

Infektionsversuche an Kaninchen, Tauben und Hunden fielen negativ aus.

### b) Übertragung protozoischer Krankheiten auf Laboratoriumstiere.

Eng verbunden mit morphologischen und entwicklungsgeschichtlichen Studien sind einige bemerkenswerte Übertragungsversuche von protozoischen Krankheitserregern auf Laboratoriumstiere, die in den letzten Jahren im Georg-Speyer-Haus angestellt wurden. So gelang es Castelli[3]) mit Frambösiematerial vom Kaninchen außer den schon bekannten Lokalerscheinungen am Skrotum durch Verimpfung von infiziertem Hodenmaterial von Hoden auf Hoden auch generalisierte Infektionen durch intravenöse Injektion von Emulsionen infizierter Hoden beim Kaninchen hervorzurufen. Nachdem es Castelli gelungen war, durch rasche Kaninchenpassagen das Frambösievirus virulenter zu machen, konnte er bei einer Reihe von jungen Kaninchen allerdings mit verschieden langen Inkubationszeiten bestimmte typische papulöse Erscheinungen hervorrufen an Körperstellen, die von der Injektionsstelle entfernt lagen. Bei intravenöser Verimpfung des Treponemenmaterials am Ohre traten die Erscheinungen sowohl an den Ohren, an der Nase, an der Schnauze, als auch an den Extremitäten auf; in einigen Fällen konnte Castelli auch Keratitiden beobachten, ähnlich wie sie auch schon bei experimenteller Syphilis beobachtet wurden. Überall, wo diese Erscheinungen auftraten, konnten auch in reichem Maße Treponemen nachgewiesen werden.

Castelli glaubt auf experimentellem Wege besser die beiden Krankheitsbilder, Frambösie und Syphilis, unterscheiden zu können, zumal eine morphologische Differentialdiagnose zwischen Treponema pallidum und pertenue unmöglich erscheint. Bei generalisierter Syphilis treten die syphilitischen Erscheinungen am Kopfe mehr in Form „gummi"-artiger Knötchen besonders an der Nase auf. Die weit häufiger auftretenden Erscheinungen am Kopfe der mit Frambösie generalisiert infizierten Kaninchen sollen nur in Form von „Hautpapeln" sich zeigen.

Die Übertragung von Leishmania-Parasiten auf kleinere Laboratoriumstiere, wie Mäuse und Ratten, die man lange Zeit für unmöglich hielt, konnte fast zu gleicher Zeit mit französischen Autoren im Georg-Speyer-Haus in den letzten beiden Jahren erfolgreich ausgeführt werden. So

[3]) Zeitschr. f. Chemoth. u. verw. Geb., **1**, 167, **1912** [*332*].

gelang es W. L. Yakimoff und N. Kohl-Yakimoff[4] [5]) durch Verimpfung von infiziertem Hundematerial aus Tunis Leishmania infantum in einem großen Prozentsatz auf Mäuse zu übertragen. Auch die Verimpfung von Kulturmaterial war positiv. Bei den Mäusen kam es nach einer sehr verschieden langen Inkubationszeit, die sich über Wochen und Monate erstrecken konnte, zu einer allgemeinen Infektion, besonders von Leber, Milz und Knochenmark. Infektionsversuche von Maus auf Maus waren ebenfalls erfolgreich.

Gonder[6]) gelang es zum erstenmal, auch die Aleppobeuleerreger, Leishmania tropica, auf Mäuse und Ratten zu übertragen. Bei diesen Versuchen konnten zu Anfang nur auf intravenösem Wege Infektionen erzielt werden, während subkutane oder intraperitoneale Verimpfungen erfolglos waren. Bei weiteren Passagen durch Verimpfung von Organmaterial von Maus auf Maus oder auch auf Ratte zeigten sich die Erreger viel virulenter. Einmal wurden die Inkubationszeiten, die sich anfangs über Wochen und Monate erstreckten, von immer kürzerer Dauer, bis zu 10 und 14 Tagen, dann war auch der Prozentsatz der positiv infizierten Mäuse fast 100, und schließlich gelangen die Infektionen auf jede Art, ob subkutan, intrakutan oder intravenös und intraperitoneal verimpft wurde. Bei weiteren Untersuchungen konnte Gonder auch in der Größe der Parasiten Unterschiede von Leishm. infantum und tropica feststellen, insofern bei den Mäuseinfektionen die Aleppobeuleerreger die Leishm. infantum-Parasiten an Größe übertrafen. Von Interesse ist auch die generalisierte Infektion von Leishm. tropica Beim Menschen pflegen bekanntlich die Geschwüre nur lokal an den exponierten Hautpartien des Gesichtes oder der Extremitäten aufzutreten. Bei den Mäusen kommt es genau wie bei Leishm. infantum-Infektionen zu starken Infektionen von Milz, Leber, Knochenmark und anderen Organen, außerdem treten noch die schweren Hautschädigungen auf, die häufig am Hoden, an den Beinen, am Schwanz, an den Ohren usw. tiefgehende Zerstörungen hervorrufen.

Auch beim Orientbeuleerreger bleibt es belanglos, ob Kulturen zur Übertragung oder frisches Organmaterial infizierter Mäuse benutzt wird (Gonder)[7]).

### c) Allgemeine biologische Studien.

Weit umfangreicher und bedeutender sind, wie schon zu Anfang gesagt wurde, die Arbeiten Ehrlichs und seiner Mitarbeiter auf dem

[4]) Bull. Path. exot., **V**, 218, **1912** [*609*].
[5]) Bull. Path. exot., **V**, 355, **1912** [*610*].
[6]) Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg., **XVII**, 397, **1913** [*356*].
[7]) 17. Intern. med. Kongreß, London, 21. Sektion **1913** [*357*].

therapeutisch-biologischen Gebiete. Ehrlich hat es verstanden, für die Lebensbedingungen protozoischer Krankheitserreger von besonders chronisch verlaufenden Krankheiten, wie den Trypanosomiasen und Spirochätosen, klare und experimentell erwiesene Erklärungen zu formulieren, die für das weitere Studium und für die Bekämpfung dieser schweren Seuchen von der allergrößten Bedeutung wurden. Ehrlich und seine Mitarbeiter vermochten die erste Deutung für die Rezidivstämme der Trypanosomen zu geben, die ja bekanntlich der Bekämpfung die größten Schwierigkeiten entgegensetzten, und deren Entstehung und Beziehungen zu den verschiedensten Antikörpern bis heute noch von vielen Seiten nicht recht verstanden werden. Es wird daher von besonderem Interesse sein, hier auf diese Erklärungen Ehrlichs, wie sie zum erstenmal im Nobelvortrag in Stockholm[8]) gegeben wurden, des näheren einzugehen.

Ehrlich nimmt eine Reihe von Nährstoffen an, meist wohl eiweißartiger Natur, die an den Zellen „spezifische Rezeptoren" vorfinden. Auf dem Wege der Immunisierung ist es möglich, diese Rezeptoren in reicher Fülle und in der Form typischer Varietäten ins Blut herauszulocken und dort so anzuhäufen, daß ein besseres Studium dieser Substanzen nun möglich wird. Bekannt sind ja bereits die weitgehenden Untersuchungen solcher Stoffe, wie der Agglutinine, der Präzipitine, der Ambozeptoren, der Opsonine, der Antitoxine und der Antifermente. Alle Zellstoffe (Rezeptoren), die befähigt sind, Nährstoffe für die Zelle zu assimilieren, bezeichnet Ehrlich als „Nutrizeptoren". Unter den Nutrizeptoren unterscheidet er solche, welche nur den einfachsten Funktionen dienen, wie der Aufnahme von Fettsubstanzen oder Zuckerarten, und welche nicht in der Form von Antikörpern in das Blut übertreten, ferner solche, welche der Aufnahme komplizierterer Stoffwechselprodukte wie Eiweißkörper dienen und durch eine Hyperregeneration schließlich als Antikörper in das Blut gelangen können, und endlich solche, bei denen es sich nicht um eine Neubildung, sondern um Rezeptorenschwund handelt.

Die Rezeptoren der Parasitenzellen können nun ihrerseits durch Einwirkung auf die korrespondierenden Zellrezeptoren des Wirtsorganismus zur Antikörperbildung führen. Wird z. B. durch ein chemotherapeutisches Agens, wie durch das Salvarsan, bei einem an Spirochätosis erkrankten Huhn eine kleine Menge von Spirochäten vernichtet, so kann unter Umständen die durch die Abtötung und Resorption der Spirochäten bewirkte Antikörperbildung genügen, den übrigen Teil der Krankheitserreger abzutöten. Ebenso wird bekanntlich bei der Frambösie schon durch geringe Dosen von Salvarsan eine Sterilisatio magma erreicht, dadurch,

[8]) Münch. med. Wochenschr., H. 5, S. 217, **1909** [*109*].

daß das Heilmittel und die durch das Heilmittel bewirkte Antikörperbildung zusammenwirken.

Bei anderen protozoischen Krankheiten, besonders chronischer Art, wie bei den Trypanosomiasen, kommt es aber sehr häufig vor, daß die Antikörperbildung ohne irgendwelche abtötende Funktion ist. Es handelt sich hierbei um eine Einwirkung der Antikörper auf solche Nutrizeptoren der Parasitenzellen, welche atrophieren können, also um Rezeptorenschwund. Die Trypanosomen vermögen sich der Antikörperwirkung zu entziehen oder vielmehr, sie passen sich allmählich den Antikörpern an, so daß dieselben wirkungslos sind. Die Parasiten sind „serumfest" geworden.

Bei diesen serumfesten Trypanosomenstämmen muß also der Nutrizeptor, der die Antikörper bindet, fehlen, resp. er muß verschwunden sein. Franke[9]) konnte durch Versuche, die er 1905 im Institut für experimentelle Therapie ausführte, zeigen, daß das Blut eines mit Trypanosomen infizierten Affen nach Abtötung der Trypanosomen durch ein chemisches Agens eine abtötende Wirkung auf den normalen Ausgangsstamm in der Maus hatte. Dagegen konnte er denselben Affen mit dem gleichen Ausgangsstamm reinfizieren, allerdings mit einer sehr verlängerten Inkubationszeit. Die Trypanosomen mußten sich demnach im Affen verändert haben, mußten serumfest geworden sein. Weitere Experimente, die Ehrlich mit seinen Mitarbeitern Roehl und Gulbranson[10]) anstellte, zeigten, daß man außerordentlich leicht in der Maus derartige serumfeste Trypanosomenrassen züchten kann. Behandelt man beispielsweise einen normalen Ausgangsstamm mit ungenügenden Dosen eines Heilmittels, Atoxyl, Arsenophenylglyzin, Salvarsan oder dgl., so tritt nach einer mehr oder weniger langen Zeit in der behandelten Maus ein Rezidiv auf. Die Parasiten wurden zum größten Teil abgetötet, und nur einige wenige, die der Wirkung des Heilmittels entgingen, konnten sich in den Organen oder in feinsten Kapillaren der Antikörperwirkung entziehen. Mit der Zeit aber passen sich diese wenigen, übrig gebliebenen Trypanosomen dem Serum wieder an, vermehren sich wieder in ganz normaler Weise und rufen dann schnell den Tod des Tieres herbei. Auch auf andere Art lassen sich derartige serumfeste Stämme erzeugen, indem man einen normalen Ausgangsstamm mit einem Heilmittel in der Maus zur vollständigen Abtötung bringt, dann nach einer bestimmten Zeit, nach welcher auch das chemische Agens ohne Wirkung ist, wieder mit dem gleichen Ausgangsstamm infiziert. Die vorher geheilte Maus zeigt dann nach einer aller-

[9]) I.-D. Gießen **1905** [*349*]; vgl. auch Münch. med. Woch., H. 42, **1905** [*348*].
[10]) Zeitschr. f. Imm. u. exp. Ther., **III**, 296, **1909** [*201*].

dings sehr verlängerten Inkubationszeit wieder Trypanosomen im Blut und erliegt auch der Infektion. Auch hier wurden die meisten Trypanosomen infolge der vorher durch die Abtötung hervorgerufenen Antikörperbildung zerstört, nur einige entgingen derselben, paßten sich dem Serum an und wurden serumfest. Derartig erzeugte Trypanosomenstämme gehen auf Mäuse, die vom normalen Ausgangsstamm vollkommen sterilisiert sind, wie die Ausgangsstämme in normalen Mäusen glatt an, unterscheiden sich nur von diesen durch die biologische Abänderung, die durch ihre Festigkeit gegen die durch den Ausgangsstamm erzeugten Antikörper wohl charakterisiert ist. Daß diese biologische Abänderung nicht oberflächlicher Art sein kann, geht daraus hervor, daß sie durchaus unverändert erhalten bleibt, sich vererbt und zwar durch Hunderte von Passagen, natürlich unter den gleichen Ernährungsbedingungen, z. B. in der gleichen Tierart.

Ehrlich (l. c. [8]) gab für diese wichtige und hochinteressante Erscheinung folgende Erklärung:

„In dem Ausgangsstamm ist eine bestimmte einheitliche Art von Nutrizeptoren, die wir als Gruppe ‚A' bezeichnen, in reichem Maße vorhanden. Werden nun die Parasiten innerhalb des Mäuseorganismus abgetötet und aufgelöst, so wirkt die Gruppierung ‚A' als Antigen und erzeugt nun einen Antikörper, der seiner Entstehung nach Verwandtschaft zur Gruppe ‚A' besitzt. Wenn man nun lebende Parasiten, sei es im Reagenzglas, sei es in vivo mit diesem Antikörper in Berührung bringt, so wird derselbe von den Trypanosomen verankert. Unter dem Einfluß dieser Besetzung erleiden in vivo die Parasiten diejenige Abänderung, die zum Rezidivstamm überführt. Diese Abänderung geschieht in der Weise, daß in dem neuen Stamm die ursprüngliche Gruppierung ‚A' verschwindet und dafür eine neue Gruppierung, die als ‚B' bezeichnet werden möge, auftritt. Daß in dem Rezidivstamm eine neue Gruppierung vorhanden ist, ist in folgender Weise ersichtlich: infiziert man zwei Mäuse mit dem Rezidivstamm, Träger der Gruppierung ‚B', heilt sie komplett und infiziert die eine Maus mit dem Ausgangsstamm, die andere mit dem Rezidivstamm selbst, so geht die Nachimpfung mit dem Ausgangsstamm, Träger der Gruppierung ‚A' glatt an, während die Nachinfektion mit dem Rezidivstamm zunächst versagt. Es geht daraus hervor, daß Ausgangsstamm und Rezidivstamm dysidentisch sind oder zwei verschieden funktionierende Gruppen besitzen müssen. Wir haben hier also einen typischen Fall immunisatorisch erzeugten Rezeptorenschwundes unter Bildung einer ganz neuen Rezeptorenart.

Ob man diese Veränderung als Mutation oder Variation bezeichnen will, ist wohl von geringerer Bedeutung, die Hauptsache ist, daß

sie bewußt künstlich erzeugt werden kann, und daß sie vererblich ist. Bei dem großen Interesse aber, das gerade dieses Problem in der Biologie und der Entwicklungsgeschichte hat, haben wir uns bemüht, ein näheres Verständnis dieses Vorganges zu gewinnen.

Zunächst galt es hierbei festzustellen, in welcher Weise die Trypanosomenantikörper die Parasiten beeinflussen. Der gewöhnlichen Annahme der Immunitätslehre entsprechend könnte man voraussetzen, daß diese Antikörper direkte Giftwirkungen auslösen, also toxophore oder trypanolytische Gruppen enthalten, und daß somit die Verankerung als solche eine Schädigung resp. Abtötung der Zelle auslösen müßte. Das ist aber, wie ich und meine Mitarbeiter uns überzeugt haben, nicht der Fall. Im Gegensatz zu den gewöhnlichen Trypanosomenrassen, die nur eine einheitliche Gruppierung ‚A', ‚B' oder ‚C' usw. enthalten und daher als Unione bezeichnet werden mögen, kommen andere Arten vor, die gleichzeitig zwei Gruppierungen, z. B. ‚A' und ‚B' in ihrem Protoplasma besitzen und daher Binionen genannt sein mögen. Läßt man auf einen solchen Binio ‚A'—‚B' den isolierten Antikörper von ‚A' oder von ‚B' wirken, so findet hierdurch nicht die mindeste Schädigung des Wachstums statt. Dieselbe erfolgt erst dann, wenn gleichzeitig der Parasit von den beiden Antistoffen okkupiert wird. Es folgt daraus, daß die Anwesenheit von Antikörpern keine direkte toxische Wirkung auf die Trypanosomen ausübt, sondern es scheint aus diesem dreifachen Versuch hervorzugehen, daß der Antikörper nur dadurch wirkt, daß er durch die Besetzung der betreffenden Gruppe die Zufuhr der Nährstoffe verhindert. Daher kann, wenn in dem Binio ‚A'—‚B' die Gruppierung ‚A' durch den Antikörper verschlossen wird, der Parasit vermittels seiner Gruppierung ‚B' weiter vegetieren. Es ist hiermit auch der Nachweis erbracht, daß die Gruppierungen ‚A' und ‚B' im wesentlichen als Nutrizeptoren aufzufassen sind.

Ist die Menge des Antikörpers sehr groß, so kann der Parasit sich überhaupt nicht mehr ernähren und stirbt ab. Man kann sich davon am einfachsten überzeugen, wenn man die Parasiten mit verschiedenen Mengen Antiserums im Reagenzglas mischt. Bei den hohen Konzentrationen, die die Ernährungszufuhr vollkommen abbinden, erfolgt eine Abtötung der Parasiten, dagegen bildet sich ein Rezidivstamm bei den schwächeren Konzentrationen, die eine vita minima gestatten, in welcher die Mutation erfolgen kann. Diese Mutation ist also ausschließlich auf Hunger des Protoplasmas zurückzuführen, unter dessen Einfluß neue potentielle Anlagen des Trypanosomens zur Entfaltung kommen. Ich bezeichne daher derartige Antikörper, wie wir sie eben gesehen haben, und die rein antinutritiv wirken, als „Athrepsine", und glaube, daß diese nicht nur bei den Bakterien,

sondern überhaupt in der Biologie eine außerordentlich große Rolle spielen dürften."

Außer den serumfesten Trypanosomenstämmen haben noch die sogenannten arzneifesten Trypanosomenstämme ein besonderes biologisches Interesse. Auf die Erklärung und die Entstehung dieser wichtigen für die Chemotherapie so bedeutend gewordenen arzneifesten Trypanosomenstämme soll in diesem Kapitel nicht des näheren eingegangen werden. Es sei nur soviel gesagt, daß Ehrlich seine Anschauungen der Zellrezeptoren auf Grund systematischer Untersuchungen auch auf chemische Körper ausdehnte und so zu den Chemozeptoren gelangte; das sind bestimmte Gruppierungen, die, im Protoplasma der Parasiten vorhanden, imstande sind, sich mit gewissen Gruppierungen der Arzneimittel zu verbinden. Auf verschiedene Weise kann man arzneifeste Trypanosomenrassen erhalten, einmal dadurch, daß man die Parasiten durch lange Generationen hindurch fortgesetzt in steigender Weise mit den Arzneimitteln behandelt, mit anderen Worten durch progressive Gewöhnung langer Parasitengenerationen. Dann ist es möglich, die Erreger gleichsam „mit einem Schlag" arzneifest, z. B. Trypanosomenstämme mit geeigneten Arsenikalien arsenfest zu machen schon mit einer einmaligen Behandlung. Ferner gelingt es, auf einem dritten Weg schnelle Arzneifestigkeit zu erzielen, die dadurch ihre Erklärung findet, daß ein bestimmter Chemozeptor, beispielsweise der Arsenozeptor für verschiedenartige Typen von Heilmitteln die gleiche Angriffsstelle bieten kann. Es seien hier vor allem die interessanten Arbeiten aus dem Georg-Speyer-Haus von Ehrlich[11]), Roehl[12]), Neven[13]) und Kudicke[14]) erwähnt, die fanden, daß orthochinoide Substanzen wie Pyronin oder Trypoflavin (ein Akridinfarbstoff) Arsenfestigkeit bewirken können.

In seinen Studien über die Biologie der Trypanosomen fand ferner Kudicke[14]), daß ein chemotherapeutisch veränderter Trypanosomenstamm, z. B. ein mittels Pyronin blepharoplastlos gemachter Trypanosomenstamm immunisatorisch nicht mit dem normalen Ausgangsstamm übereinstimmte, sondern mit einem dritten Rezidivstamm des Ausgangsstammes identisch war. Durch Mischversuche des Pyroninstammes mit Pyronin im Reagenzglas und durch nachfolgende Injektion der Gemische in Mäuse wurde eine Reihe von Stämmen erzielt, die mit dem Mutterstamm nicht mehr im Rezeptor, d. h. immunisatorisch übereinstimmten. Auch zeigte es sich, daß die oben erwähnten

[11]) Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg., **XIII**, Beih. 6, S. 91, **1909**, [*110*].
[12]) Ebenda zitiert S. 102.
[13]) I.-D. Gießen **1909** [*491*].
[14]) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt. Orig., **LXI**, 113, **1911** [*394*].

Stämme, der Pyroninstamm und der dritte Rezidivstamm, die immunisatorisch identisch waren, auch hinsichtlich ihrer Pathogenität Ziegen gegenüber identisch waren. Die Ziegen konnten mit diesen Stämmen nicht infiziert werden. Trotzdem zeigten sich im Serum der mit diesen Trypanosomenstämmen erfolglos behandelten Ziege trypanozide Antikörper. Die Fähigkeit, Antikörper auszulösen, ist demnach unabhängig von Nutritionsvermögen und Pathogenität. Aus diesen Feststellungen Kudickes, daß morphologisch differente — durch das verschiedene Verhalten des Blepharoplasten stets unterscheidbare Trypanosomen — sich immunisatorisch völlig gleich verhalten können, daß Rezidivstämme sich in ihrer Pathogenität vom Ausgangsstamm unterscheiden können, daß Rezidivstämme, die diese Eigenschaft haben, sich in ihren Ausgangsstamm zurückverwandeln lassen, und daß trypanozide Stoffe nach Injektion trypanosomenhaltigen Materials entstehen, auch wenn die Trypanosomen sich in dem betreffenden Tier nicht zu entwickeln vermögen, geht deutlich hervor, wie nahe verknüpft die rein chemotherapeutischen und rein serologischen Studien der Trypanosomen sind. Daß ein Rezidivstamm in den Ausgangsstamm zurückgehen konnte, erklärt sich leicht aus dem Versuch. Bei den mit dem Ziegenserum — von Ziegen, die mit Trypanosomen behandelt wurden, ohne daß sie infiziert wurden — behandelten und gleichzeitig infizierten Mäusen entstanden natürlich immunisatorisch verschiedene Trypanosomenstämme. Das Serum verhinderte eine Infektion nicht vollständig, sondern die Infektionen traten nur nach einer sehr verlängerten Inkubationszeit auf; d. h. mit anderen Worten, in den Trypanosomen wurde eine biologische Abänderung hervorgerufen. Es wurde ja oben schon erklärt, daß es nicht schwer ist, in der Maus eine ganze Anzahl von Rezidivstämmen künstlich und bewußt zu züchten, die, allein weitergezüchtet, ihre biologische Abänderung vererben. Unter neue Lebensbedingungen, wie in andersartige Seren gebracht, können aber diese Rezidivstämme leicht ihren Rezeptor verändern.

Anschließend an die Kudickeschen Arbeiten sind für den Protozoologen besonders noch die Werbitzkischen Untersuchungen aus dem Georg-Speyer-Haus von Wichtigkeit[15]). Werbitzki wies nach, daß bestimmte chemische Substanzen der Pyroninreihe und Akridinreihe, Substanzen von orthochinoider Konstitution, eine besondere Affinität zu bestimmten Zellkomponenten besitzen, z. B. zum Blepharoplasten, indem sie diesen zweiten kleineren Kern der Trypanosomen zum Verschwinden bringen. Hier wird demnach die chemische Reaktion auch dem Auge sichtbar gemacht. Die Veränderung der chemotherapeutisch

[15]) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt. Orig., **LIII**, 303, **1910** [*604*].

behandelten Trypanosomen drückt sich auch in der Morphologie aus. Und jeder, der zum erstenmal an das Studium dieser blepharoplastlosen Trypanosomen herantritt, wird glauben müssen, in der Tat eine neue, künstlich mit chemischen Mitteln hervorgerufene Art von Trypanosomen vor sich zu haben. Es würde von eminenter Bedeutung für das Vererbungsproblem sein, hier den ganzen Entwicklungszyklus zu studieren. Denn an Pathogenität, an Lebensfähigkeit, an Fortpflanzungsfähigkeit büßen derartig veränderte Trypanosomen durchaus gar nichts ein. Die Blepharoplastlosigkeit vererbt sich ebenso wie andere künstlich auf chemischem Wege hervorgerufene Eigenschaften, durch welche sich derartige veränderte Trypanosomenrassen von ihren Ausgangsstämmen unterscheiden.

Während Werbitzki in seinen Untersuchungen die morphologischen Details feststellte und auch auf einige biologische Eigenschaften der blepharoplastlosen Trypanosomenstämme einging, versuchte Kudicke[16]) und nach ihm Gonder[17]) genauer den ganzen Wirkungsmechanismus dieser orthochinoiden Substanzen zu erklären. Gonder zeigte, daß vermittels orthochinoider Farbstoffe, wie mit dem Triaminophenazoxoniumchlorid und dem Selenazoxoniumchlorid die Arsenfestigkeit, jene biologische auf chemischem Wege erzeugte Verminderung des Arsenozeptors, auch dem Auge sichtbar gemacht werden kann. Mit diesen Farbstoffen lassen sich arsenempfindliche Trypanosomen schon in vitro färben und dann auch schnell abtöten, arsenresistente Trypanosomen dagegen bleiben lange am Leben bei Anwendung der gleichen Konzentrationen und färben sich erst postmortal. Kudicke (l. c. [16]) zeigte an Hand von Tafeln, daß Trypoflavin, der wirksamste Farbstoff der orthochinoiden Substanzen direkt am Blepharoplasten angreift und ihn, was besonders bei Trypanosoma lewisi gut nachzuweisen ist, an Ort und Stelle zerstört. Oft versucht auch der Blepharoplast von seinem ursprünglichen Platz nach dem Hauptkern hin fortzuwandern. Diese Untersuchungen, die von Laveran und Roudsky anfangs bezweifelt wurden, konnte Gonder (l. c. [17]) vollauf bestätigen. Auch aus dem Kern treten unter Umständen in das Protoplasma kleinere Chromatinbestandteile über, wo dieselben bald zugrundegehen. Der ganze Blepharoplast oder auch große Teile von ihm versuchen bei Trypanosoma lewisi nach dem Kern hin zu fliehen, unterliegen aber unterwegs noch, ehe sie den Hauptkern erreichen, der Einwirkung der Substanzen. Es mag, wie Gonder meint, an der Entwicklung von Trypanosoma lewisi liegen, daß es unmöglich ist, einen vollständig

[16]) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., **LIX**, 182, **1911** [*393*].
[17]) Zeitschr. f. Imm. u. exp. Ther., **XV**, 257, **1912** [*355*].

blepharoplastlosen Trypanosoma lewisi-Stamm zu züchten. Bei Trypanosoma brucei dagegen ist der Widerstand des Blepharoplasten weit geringer; dadurch ist es auch ein leichtes, ziemlich rasch einen vollkommen blepharoplastlosen Stamm zu züchten, wie dies auch Werbitzki dargelegt hat. Der Blepharoplast bei Trypanosoma brucei wird an Ort und Stelle zerstört. Daß die Bewegungsfähigkeit bei diesen blepharoplastlosen Trypanosomen nicht im mindesten gestört wird, auch die Pathogenität bei Mäusen oder Ratten durchaus nicht nachläßt und die Fortpflanzungsfähigkeit unbeeinträchtigt bleibt, hat seinen Grund darin, daß der wichtigste Bestandteil im Blepharoplasten, das Centriol, erhalten bleibt.

Alles, was oben über die Vererbung von serumfesten Trypanosomenstämmen auseinandergesetzt wurde, gilt auch für die chemotherapeutisch veränderten Rassen. Ein arzneifester Stamm, dessen spezifische Eigenschaft die Festigkeit gegen bestimmte Gruppierungen von chemischen Heilsubstanzen ist, vererbt diese Eigenschaft durch beliebig viele Passagen hindurch über viele Jahre fortgesetzt, wie dies Ehrlich wiederholt in seinen bekannten Vorträgen über Chemotherapie dargelegt hat[18])[19]), l. c. [8]). Einzelne Ausnahmen von dieser Regel sind nur scheinbar. Wenn die Arzneifestigkeit nach einer Reihe von Passagen verschwand, so erklärt sich diese Tatsache daraus, daß bei der Verimpfung nicht ausschließlich arzneifeste Trypanosomen verwendet wurden, sondern, daß noch ein gewisser Rest von arzneiempfindlichen Trypanosomen vorhanden war, der bei den Weiterverimpfungen dann überwucherte und schließlich die arzneifesten Individuen verdrängen konnte. Jedenfalls steht es fest, daß eine absolut arzneifeste Rasse ihre spezifische Festigkeit nicht ohne weiteres verlieren kann — es könnten allerdings bereits Veränderungen im Nutrizeptorenapparat, wie oben auseinandergesetzt wurde, auch den Chemozeptor, resp. dessen Avidität verändern —, und es steht weiterhin fest, daß diese biologische Eigenschaft über Milliarden von Einzelindividuen vererbt wird. Es bleibt dabei ganz gleich, ob diese Arzneifestigkeit mit einem Schlage, wie man sagt, „mutativ", mit besonders dazu geeigneten Substanzen erzielt wurde, oder auf anderem schnellem Wege, durch Vorbehandlung mit orthochinoiden Substanzen, oder auch ganz allmählich durch langsame Gewöhnung oder Anpassung.

Daß die arzneifesten Stämme nicht allein durch Selektion entstehen, indem nur ganz besonders von Natur schon geschützte Trypanosomen der abtötenden Kraft der Arzneimittel widerstehen, geht aus vielen Experi-

---

[18]) Zeitschr. f. ärztl. Fortbildung, Jahrg. **VI**, 721, **1909** [*111*].

[19]) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Ref., **L**, Beiheft, 94, **1911** [*132*].

menten hervor. Schon die oben erwähnte sogenannte „mutative" Festigung wäre ein Beispiel. Bei Behandlung eines normalen, arsenempfindlichen Ausgangsstammes in der Maus mit einem Kondensationsprodukt aus p-oxymetaamidophenylarsenoxyd und Resorcylaldehyd werden die Trypanosomen gar nicht abgetötet, wenn man solche Dosen des Präparates wählt, die therapeutisch von gar keiner Wirkung sind. Bei der nächsten Passage läßt sich schon die Arsenfestigkeit, um welche es sich in diesem Falle handelt, nachweisen. Auch läßt sich mittels Oxazinfarbstoffen ohne erfolgte Passage nach Behandlung mit eben erwähntem Präparat in vitro der behandelte Stamm von seinem Ausgangsstamm unterscheiden. Natürlich wird bei einer allmählichen Anpassung durch fortgesetzte Gewöhnung an die Arzneistoffe, beispielsweise bei Herstellung eines salvarsanfesten Spirochätenstammes eine Auslese stattfinden müssen, besonders bei jeder neuen Steigerung der therapeutischen Dosen. Die weniger widerstandsfähigen oder, anders gesagt, die noch nicht vollkommen gegen die angewandte Dosis gefestigten Spirochäten oder Trypanosomen werden schneller zugrunde gehen, als die bereits gefestigten; dieser Vorgang wird sich so lange wiederholen, bis schließlich eine absolut feste Rasse entstanden ist.

Wir haben bei den arzneifesten Rassen bestimmte biologisch auf chemischem Wege bewußt hervorgerufene, veränderte Formen vor uns, neue Formen mit konstanten Eigenschaften, die sich vererben. Das ist das wesentliche dabei. Ob sich nun die biologische Abänderung auch dem Auge zeigt, indem der Blepharoplast wie bei dem Werbitzki-Stamm verschwindet, also die Veränderung sich auch in der Morphologie ausdrückt, oder ob sie sich nicht zeigen kann und im Kern oder Protoplasma liegt, ohne sichtbar zu werden, oder nur dann sichtbar wird, wenn bestimmte Reagenzglasversuche bei Behandlung der Trypanosomen mit geeigneten Farbstoffen besondere Unterschiede zeigen, bleibt sich einerlei. Jedenfalls vererbt sich die biologische, auf chemischem Wege aufgezwungene Veränderung durch Milliarden von Generationen durch unendliche, viele aufeinanderfolgende Teilungen derselben Plasmamenge. Aus diesem Umstand geht auch hervor, daß von einer Speicherung der Arzneimittel im Plasma oder Kern der Parasiten nicht die Rede sein kann. Denn sonst müßte die Speicherung durch die fortgesetzten Teilungen und durch die weiteren Passagen durch neue Tiere allmählich eine Verminderung erfahren. Der Vorrat müßte schließlich durch die neuen Lebensbedingungen und die fortgesetzte Ernährungszufuhr bei Weiterverimpfung allmählich zu einem Minimum herabsinken. Dem ist aber durchaus nicht so. Die Veränderung ist also eine bestimmte, im Kern oder im Plasma liegende Funktion, die eine Änderung in der Zelle, ein anderes biologisches Ver-

halten gegenüber Arzneistoffen verursacht hat. Diese wichtigen und interessanten Ergebnisse für die Gesamtbiologie hat Ehrlich in seinen Vorträgen wiederholt ganz besonders hervorgehoben.

Es lag nahe, nun zu versuchen, derartig chemofeste Trypanosomenrassen wieder auf irgendeine Art zu normalen Rassen umzuwandeln. Da der chemische Weg, durch geeignete Substanzen dies zu erreichen äußerst schwierig, auch schließlich für vererbungstheoretische Studien weniger geeignet erschien — wir hätten dann wiederum chemisch umgebildete Formen vor uns gehabt —, wurde der zweite Weg, der biologische, gewählt. Ehrlich (l. c. [19]) legte bereits auf dem Mikrobiologenkongreß 1911 die Untersuchungen Gonders aus dem Georg-Speyer-Haus genauer dar. Gonder[20]) arbeitete in Ermangelung von Glossinen mit einem einheimischen Trypanosoma, Trypanosoma lewisi, und mit dessen natürlichem Überträger, der Rattenlaus Haemotopinus spinulosus. Für die Vererbung arzneifester Trypanosomen mußte man auch den ganzen Entwicklungskreis der Trypanosomen berücksichtigen, vor allem die Befruchtung. Denn es war noch nicht der Beweis geliefert, ob nicht etwa die chemisch veränderten Trypanosomen pathologisch veränderte Formen sind, die sich nur noch im Blute auf asexuellem Wege vermehren können. Gonder konnte dann durch ausgedehnte Versuche zeigen, daß ein arsenophenylglyzinfester Trypanosoma lewisi-Stamm durch die Passagen von Haematopinus spinulosus, dem natürlichen Überträger von Trypanosoma lewisi, seine Festigkeit verliert und zum normalen Stamm zurückkehrt, d. h. nur dann, wenn keine mechanische Übertragung vorlag, sondern, wenn erst Befruchtung und Umbildung zu Ookineten eingetreten war. Die aus der Befruchtung resultierenden chritidiaähnlichen Trypanosomen aus der Rattenlaus konnten wieder normal infizieren und waren auch, ebenso wie der normale Ausgangsstamm von Trypanosoma lewisi, arsenophenylglyzinempfindlich. Die Befruchtung war also der Regulator, der der Erhaltung der Art dient oder, wie Ehrlich treffend sagt, der „Jungbrunn". Aus diesen Untersuchungen geht hervor, daß wir, solange keine weiteren an anderen Trypanosomen gemachten Versuche in dieser Richtung vorliegen, nicht wirklich neue Arten vor uns haben, sondern nur Varietäten ganz besonderer Entwicklungsformen, allerdings mit konstanten Eigenschaften.

Anders verhalten sich in dieser Beziehung die Spirochäten. Nachdem es Gonder[21]) im Georg-Speyer-Haus gelungen war, salvarsanfeste Spirochätenstämme von Spir. recurrentis und Spir. gallinarum durch

[20]) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., **LXI**, 102, **1911** [*353*].
[21]) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., **LXII**, 168, **1912** [*354*].

Behandlung der infizierten Tiere mit kleinen, ganz allmählich ansteigenden Dosen von Salvarsan zu züchten, wurde versucht, in der gleichen Weise auch diese über die Dosis curativa hinaus gefestigten Spirochätenstämme durch den natürlichen Überträger zu schicken, um ebenso wie bei Tryp. lewisi vielleicht eine Änderung in der Salvarsanfestigkeit hervorzurufen. Dabei stellte es sich aber heraus, daß die durch ganz allmähliche Gewöhnung durch eine Reihe von Generationen hindurch erzielte hochgradige Salvarsanfestigkeit vollkommen erhalten blieb (Gonder[22]). Die einmal angenommene Eigenschaft vererbte sich also auch im Überträger, in den Zecken Argas persicus und Ornithodorus moubata. Selbst durch zwei Zeckengenerationen und durch verschiedene Eiablagen hindurch hielten sich die Spirochäten ganz gleich in ihrer Festigkeit, trotzdem sie in ihrer Lebensfähigkeit, in ihrer Fortpflanzungsfähigkeit gar nichts einbüßten, selbst wenn sie ganz anderen Lebensbedingungen unterworfen wurden. Dies beweist, daß wir hier in der Tat neue, biologisch wenigstens von den Ausgangsformen verschiedene Formen vor uns haben, neue auf chemische Weise veränderte Arten, die andere konstante biologische Eigenschaften, als der Ausgangsstamm besitzen.

Die Erklärung für diese Erscheinung liegt jedenfalls in der Entwicklungsgeschichte der Spirochäten. Spirochäten, Mikroorganismen, die, wie neuere Untersuchungen ergeben haben, vielleicht nur eine Zwischenstellung zwischen eigentlichen Protozoen und Algen oder Bakterien haben, gehen in den Zecken möglicherweise gar keine Befruchtung ein, sondern vermehren sich nur, wenn auch viel weniger rasch und häufig, in den Zecken auf rein asexuellem Wege. Spirochäten werden in den Zecken wenigstens allenthalben und zu jeder Zeit angetroffen, so daß diese Vermutung sehr nahe liegt und auch durch das eben erwähnte Übertragungsexperiment von salvarsanfesten Spirochäten noch bekräftigt wird.

Diese chemotherapeutisch-biologischen Experimente eröffnen demnach der modernen biologischen Forschung ganz neue Wege. Es ist ein ungeheurer Fortschritt, wenn wir mit bekannten chemischen Mitteln aus Arten mit bestimmten konstanten Eigenschaften Varietäten oder neue Arten künstlich, d. h chemisch hervorrufen, dabei auch für diese Erscheinung eine richtige Erklärung haben, ja sogar diese Erscheinung auch dem Auge entweder im Reagenzglas sichtbar machen können oder auch direkt in der Zelle durch morphologische Veränderungen, wie durch Zerstörung des Blepharo-

[22]) 17. Internat. med. Kongr., London, 21. Sektion, Diskussionsbemerkung, **1913** [*358*].

plasten zu demonstrieren und schließlich aber vielleicht auch neue Rassen zu bilden vermögen.

Die Zusammenarbeit von Chemie und Biologie in genialster Weise zuerst auf ein festes Fundament gestellt zu haben, um nicht nur theoretisch, sondern auch vor allem praktisch dem Wohl der gesamten Menschheit zu dienen, ist Ehrlichs großes Verdienst. Er ist der große Bahnbrecher auch auf diesem therapeutisch-biologischen Gebiet, wie auf den anderen Gebieten der Medizin und Naturwissenschaften, denen seine schöpferische Arbeit gilt.

8.

# Botanik.

Von

**A. C. Hof,**

Frankfurt a. M.

Bei seinen biologischen Studien hat Ehrlich gelegentlich selbst an Pflanzen experimentiert; so hat er Versuche über das Aufsteigen von Farbstofflösungen in der Pflanze, sowie über vitale Färbungen an Pflanzen angestellt. Seinem universell-biologischen Wissen sind die besonderen Lebensprobleme der pflanzlichen Zelle in ihrer Verschiedenheit von den Vorgängen im tierischen Organismus nicht entgangen. Der Chemismus der Pflanzenzelle, der mit anderen Ausgangsstoffen und unter anderen Bedingungen arbeitet, bietet eben zum großen Teil andere Probleme als die tierische Zelle.

Wohl aber lassen sich allgemeine Gedankengänge und Arbeitsmethoden eines Forschers wie Ehrlich in vielen Fällen aus ihrem ureigenen Gebiet auf verwandte Gebiete nutzbringend übertragen. So sind meine hier angedeuteten Untersuchungen, die alle einer Anregung Ehrlichs ihre Entstehung verdanken, im Grunde eine Anwendung Ehrlichscher Arbeitsmethoden auf botanischem Gebiet. Im Jahre 1900 machte Ehrlich mich mit einer von ihm [1]) zum Nachweis der Verteilung freien Alkalis im Blute angewandten Methode bekannt, die sich auch als sehr geeignet zum Nachweis freien Alkalis (auch in Spuren) in trockenen pflanzlichen Geweben erwiesen hat[2]).

Die Reaktion ist eine auf chemischen Vorgängen beruhende Färbung. Der verwendete Farbstoff ist das Jod-Eosin, das Kaliumsalz

[1]) Ehrlich-Lazarus, Die Anämie, I. Abt., Normale und pathologische Histologie des Blutes, Wien **1898**, II. Aufl., **1909** [*187*].

[2]) Botanisches Zentralblatt, **LXXXIII**, **1900** [*373*]. The Bio-Chemical Journal, **IV**, 175, **1909** [*374*].

des Tetrajod-Fluoreszeins. Das Jod-Eosin ist leichtlöslich in alkalisiertem Wasser, aber unlöslich in Äther oder anderen organischen Lösungsmitteln. Die freie Farbsäure hingegen, wie man sie als gelben Niederschlag erhält, wenn man die alkalisierte wässerige Lösung des Farbstoffs mit Salzsäure im Überschuß versetzt, löst sich nicht in Wasser, aber leicht in Äther oder organischen Lösungsmitteln. Benutzt man daher trockenes Pflanzengewebe und behandelt es mit der ätherischen Lösung dieser freien Farbsäure, so färben sich diejenigen Stellen des Gewebes, an denen freies Alkali vorhanden ist, intensiv rot: es entsteht hier aus dem freien Alkali des Gewebes und der freien Farbsäure des Jod-Eosins rückläufig wieder das rote Farbsalz. Da aber, wie angegeben, dieses Farbsalz wasserlöslich ist, so kann man nur an absolut trockenem Gewebe einwandfrei die Verteilung des freien Alkalis auf diese Weise sichtbar machen. Bequeme Ausführung und große Schärfe läßt die Reaktion für pharmakognostische Zwecke verwertbar erscheinen.

Im Sommer 1912 war es mir vergönnt, auf Anregung und mit steter Förderung seitens Ehrlichs im Georg-Speyer-Haus zu Frankfurt a. M. mich färberischen Versuchen an pflanzlichen Geweben zu widmen, deren Ergebnis kurz angedeutet sei[3]).

Eine sehr große Anzahl organischer Farbstoffe lassen sich durch geeignete Reduktionsmittel, wie Adurol, Glyzin, Methol, Na-Sulfit, vor allem aber durch Hydrosulfit, $Na_2S_2O_4$, in ihre Leukobasen zurückführen. So sind ausnahmslos die Triphenylmethanfarbstoffe, viele Pyronin-, Azin-, Oxazin-, Thiazinfarbstoffe und viele andere aus anderen Gruppen reduzierbar.

Fertigt man nun einen Querschnitt (Freihandschnitte genügen zur Orientierung) eines frischen Zweiges, etwa von Aesculus hippocastanum n, färbt ihn gründlich mit einem der angeführten reduziblen Teerfarbstoffe, bringt ihn aber nachher in ein Reduzierbad von 2 %igem Hydrosulfit, so wäre jetzt vom rein chemischen Standpunkt aus betrachtet eine völlige Entfärbung des Schnitts durch Reduktion des Farbstoffs zu erwarten. Es tritt jedoch wider Erwarten keine völlige Entfärbung des Schnitts ein, sondern man erblickt eine prächtige Elektivfärbung. So sind stets die Bastsicheln, die Wassergefäße, Rinde u. a. Elemente scharf tingiert, während das Kambium und häufig auch das Mark entfärbt werden. In den gefärbten Gewebspartien hat sich der Farbstoff mit der Pflanzenfaser fest verankert; die gefärbten Gewebe sind offenbar „reduktionsfest" geworden. Durch

[3]) Abhandl. d. Senckenberg. naturf. Ges., **XXXI**, 467, Frankfurt a. M. **1913** [*375*].

Kontrastfärbung mit geeigneten „sekundär-färbenden" Farbstoffen erhält man prächtige Doppel- und Dreifachfärbungen der Schnitte. Nicht allein frische Schnitte lassen sich in dieser Weise färben — ich habe diese Frischschnittfärbung als Rezent-Elektivfärbung bezeichnet —, das Verfahren hat sich auch mit geringer Abänderung für fixiertes Material gut bewährt. Alle derartigen Färbungen behalten unverändert ihre Töne in neutralen Einbettungsmitteln bei.

Da sich physiologisch verschiedenwertige Elemente auch färberisch verschieden erwiesen haben, so kann man mit Hilfe dieser Reduktionsfärbung farbanalytisch die Zusammensetzung pflanzlicher Gewebe studieren. Auffällig, aber aus der verschiedenen chemischen Konstitution der pflanzlichen Faser heraus erklärlich, erscheint es, daß die angegebenen Färbungen auf tierischem Gewebe nicht haften.

Mögen meine Ausführungen für den Botaniker eine Anregung sein zu weiterer Betätigung in der angedeuteten Richtung — dann wird der von Ehrlich ausgegangene gewaltige Strom neuer Ideen zu seinem Teil befruchtend wirken auch auf den Fortschritt in der Ergründung des Werdens und Vergehens der Pflanze.

C.

# Immunitätsforschung.

1.

# Einleitender Überblick.

Von

**G. Gaffky,**

Hannover-Berlin.

Der Aufforderung, den die Immunitätsstudien Paul Ehrlichs behandelnden Abschnitten dieser Festschrift einige Worte voranzuschicken, komme ich um so lieber nach, als damit auch mir die Gelegenheit geboten ist, meinem langjährigen hochverehrten Freunde an dieser Stelle meine herzlichsten Glückwünsche darzubringen.

So groß die Fülle der von Paul Ehrlich auf dem Gebiete der Immunitätsforschung gemachten wichtigen und folgenreichen Entdeckungen auch ist, am meisten zu bewundern ist doch die geniale Gedankenarbeit, aus der heraus sie erwachsen sind. Wann und wo Ehrlich neue Fragen dieses schwierigen Arbeitsgebietes in Angriff genommen hat, stets ist er ausgegangen von der Grundvorstellung, daß alle Immunitätsreaktionen Vorgänge bedeuten, die denen des normalen Stoffwechsels wesensgleich sind, und daß dabei die chemische Differenzierung des Zellinhaltes der Punkt ist, an dem der Hebel angesetzt werden muß. Schon in seinen Studien „Über das Sauerstoffbedürfnis des Organismus" (1885) ist er von dieser Grundvorstellung beherrscht. Auf ihr haben sich in der Folge seine überaus fruchtbaren theoretischen Vorstellungen von dem Wesen der einzelnen Immunitätsvorgänge, haben sich seine experimentellen Immunitätsforschungen aufgebaut.

Die erste reife Frucht seiner experimentellen Immunitätsstudien bildet die im Jahre 1891 erschienene Veröffentlichung, in der er die Ergebnisse seiner Untersuchungen über Immunisierung von Tieren gegen Ricin und Abrin mitteilte. Im Anschluß an die grundlegende Entdeckung der Antitoxine durch Behring erbrachte Ehrlich hier als erster den

Nachweis, daß eine antitoxische Immunität auch gegen Pflanzengifte sich erzielen läßt. Dabei konnte er zwei Tatsachen feststellen, die in der Folge für die Immunitätsforschung überhaupt und für die praktische Aufgabe der Gewinnung antitoxischer Sera im besonderen von der größten Bedeutung geworden sind. Er fand nämlich erstens, daß ein hoher Grad von Immunität nur durch systematisch gesteigerte Giftzufuhr zu erzielen ist, und zweitens, daß der Grad der erreichten Immunität zahlenmäßig sich ermitteln und ausdrücken läßt.

Schon im folgenden Jahre erschien Ehrlichs nicht minder bedeutungsvolle Arbeit „Über Immunität durch Vererbung und Säugung", in der er zeigte, daß von einem immunen Vater nicht die geringste Spur von Abrinfestigkeit auf die Nachkommen sich vererbt, daß sich dagegen eine solche bei den Jungen immuner Mütter stets nachweisen läßt. Die verhältnismäßig kurze Dauer dieser vererbten Immunität ließ Ehrlich an eine „passive" Übertragung denken, und tatsächlich gelang ihm in seinem berühmt gewordenen „Ammenversuch" der Nachweis, daß mit der Milch den säugenden Jungen Antitoxin zugeführt wird. Diese zunächst nur bei Mäusen festgestellte Tatsache veranlaßte Ehrlich dann, auch größere milchliefernde Tiere zu immunisieren und mit deren Milch therapeutische Versuche anzustellen.

Die Überzeugung, daß es gelingen müsse, Giftwirkungen, die am lebenden Organ oder an der überlebenden Zelle sich beobachten lassen, einer exakten Analyse zugänglich zu machen, veranlaßte Ehrlich zur Einführung des Reagenzglasversuches in die Immunitätsforschung. Bei diesen Versuchen „in vitro" konnte er, und zwar zunächst für das Tetanusgift, zeigen, daß die Sekretionsprodukte pathogener Bakterien ganz verschiedene Giftstoffe enthalten. Er entdeckte bei dieser Gelegenheit auch das in Tetanuskulturen enthaltene Tetanolysin und erbrachte ferner — zunächst für Antiricin und Ricin — den Nachweis, daß es sich bei der Einwirkung des Antitoxins auf das entsprechende Toxin tatsächlich um eine direkte Reaktion handelt, die nach chemischen Gesetzen (Gesetz der Multipla) verläuft, und die daher als eine chemische aufgefaßt werden muß.

Im Jahre 1897 folgte dann Ehrlichs für den Ausbau der Serumtherapie der Diphtherie höchst bedeutungsvoll gewordene Arbeit über die „Wertbemessung des Diphtherieserums". Die behufs Gewinnung eines verläßlichen und praktisch brauchbaren Verfahrens einer solchen Wertbestimmung ausgeführten umfangreichen Untersuchungen über den Bau der Toxine und die Beziehungen zwischen Toxin und Antitoxin befestigten und erweiterten seine Vorstellungen über das Wesen dieser bis heute noch jeder chemischen Analyse unzugänglichen Kräfte und Vor-

gänge. Dabei erwies sich die von ihm in die Toxinforschung eingeführte Methode der partiellen Absättigung als ganz besonders wertvoll. Er erkannte das „Verankerungsprinzip" als maßgebend für alle Giftwirkungen auf die lebende Zelle, und diese Erkenntnis gab ihm die Grundlage zur Aufstellung seiner genialen „Seitenkettentheorie", in deren Dienst er das von seinem unvergeßlichen Vetter und Freunde Karl Weigert begründete biologische Gesetz verwertete, nach dem der Organismus sich nicht damit begnügt, für ausgefallene Funktionen — hier die Seitenketten — Ersatz zu schaffen, sondern eine Überproduktion des zu Verlust Gegangenen stattfinden läßt. Durch Ehrlichs „Seitenkettentheorie" wurden nicht nur alle bis dahin rätselhaften Erscheinungen hinsichtlich der Entstehung und Spezifizität der Antikörper auf einfachste Weise dem Verständnis nahe gebracht, sie ist auch der gesamten Immunitätsforschung eine Grundlage von außerordentlich großem heuristischen Werte geworden. Aufs lebhafteste steht mir der Tag — der 8. November 1899 — in der Erinnerung, an dem das Ehrlichs Leitung anvertraute „Institut für experimentelle Therapie" in Frankfurt a. M. eingeweiht wurde. Meines Wissens hat Ehrlich in seiner gedankenreichen Festrede an jenem Tage zum erstenmal vor einem größeren Kreise seine Vorstellungen über die Wirkungsweise der Antigene und die Entstehung der Antikörper an der Hand jener bildlichen Darstellungen erläutert, die auch dem Laien diese verwickelten Vorgänge klar verständlich machten und die seitdem zu einem unentbehrlichen Hilfsmittel des Lehrers sowohl, wie des Forschers geworden sind.

Es muß in Hinsicht auf den Fortschritt der Immunitätswissenschaft heute geradezu als ein Glück erscheinen, daß die Seitenkettentheorie nicht sofort überall unwidersprochen angenommen wurde. Denn die von verschiedenen Seiten erfolgten Einsprüche und Angriffe haben Ehrlich und seine Schüler zu einer langen Reihe glänzender Experimente veranlaßt, welche einerseits seinen Grundanschauungen immer wieder zum Siege verholfen, andererseits aber auch eine reiche Fülle neuer Tatsachen zutage gefördert haben. Es sei hier nur der umfangreichen Hämolyinstudien Ehrlichs und seiner Schüler gedacht, durch die der Mechanismus der Hämolysinwirkung und die Beziehungen zwischen „Ambozeptor" und „Komplement" einwandfrei klargelegt wurden. Auf Grund dieser seiner Studien kam Ehrlich zu der Überzeugung, daß das Komplement in keinerlei direkter Beziehung zu den Zellen steht, sondern daß man sich den Mechanismus der Lysinwirkung so zu denken hat, daß der stabilere Ambozeptor das unentbehrliche Mittelglied bildet, bei dessen Zwischenschaltung das Komplement erst seine Wirkung auszuüben vermag.

Auf die Mannigfaltigkeit und Vielseitigkeit der Ehrlichschen Arbeiten über das Wesen der Hämolyse kann an dieser Stelle nicht weiter eingegangen werden, zumal die in den nachfolgenden Kapiteln gegebenen Übersichten auch für dieses Gebiet den Reichtum der von ihm ermittelten wissenschaftlichen Tatsachen erkennen lassen.

Ohne Zweifel ist gerade diese Arbeitsperiode die Zeit gewesen, in der Ehrlich am eifrigsten mit der eigentlichen Immunitätslehre sich beschäftigt hat. Aber auch in späteren Jahren, als er, durch andere wichtige Aufgaben (Karzinomforschung, chemotherapeutische Studien) gefesselt, persönlich auf dem Gebiete der experimentellen Immunitätsforschung im engeren Sinne weniger sich betätigen konnte, ist sein Interesse für sie dauernd ein reges geblieben. Mehrfach hat er noch zur Feder gegriffen, um die von ihm gewonnenen Anschauungen gegen abweichende Ansichten mit der ihm eigenen scharfen Logik zu verteidigen, und hat seine Schüler zu neuen, oft ergebnisreichen einschlägigen Versuchen veranlaßt. Außerdem hat er aber auch auf den von ihm neu in Angriff genommenen Arbeitsgebieten zahlreiche wichtige, mit der Immunität eng zusammenhängende Tatsachen aufgedeckt. Es sei hier nur an die bei seinen Geschwulststudien von ihm entdeckte „Panimmunität" bei Mäusetumoren und an seine Lehre von der „athreptischen Immunität" erinnert. Auch auf chemotherapeutischem Gebiete hat er als Beigabe zu seinen großen praktischen Erfolgen uns wichtige Immunitätsphänomene kennen gelehrt. Es braucht hier nur auf seine durch umfangreiche Experimente gestützte Befunde „serumfester" und „arzneifester" Parasitenstämme hingewiesen zu werden und im besonderen auf die außerordentlich wichtige Feststellung, daß die Serumfestigkeit der Trypanosomen einerseits und ihre Arzneifestigkeit andererseits auf ganz verschiedene Art zustande kommen.

Von der Bedeutung Paul Ehrlichs als des genialen Immunitätsforschers werden die nachfolgenden Abhandlungen Zeugnis ablegen. Hier möchte ich nur noch auf die große Zahl bisher nicht berührter Arbeiten hinweisen, die auf seine Anregung hin und unter seiner Mitwirkung von seinen vielen Schülern auf dem Immunitätsgebiete ausgeführt sind. Es sei erinnert an die aus seinem Institute hervorgegangenen Veröffentlichungen über Fermente und Antifermente, über verschiedene Toxine tierischen Ursprungs, im besonderen über die Wirkungsweise des Cobragiftes, sowie über das „Theobald Smithsche Phänomen".

Zahlreich sind die aus Ehrlichs Institut hervorgegangenen, in das Immunitätsgebiet gehörenden Untersuchungen, die sich teils mit prüfungstechnischen, teils mit bakteriologischen und serodiagnostischen Fragen befassen. Mehrfach sind auch die Immunitätserscheinungen

durch Arbeiten seiner Mitarbeiter und Schüler von physikalisch-chemischen Gesichtspunkten aus beleuchtet worden.

So groß die rein wissenschaftliche Bedeutung der Immunitätsstudien Ehrlichs ist, ihr praktischer Wert ist kaum minder hoch anzuerkennen. Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß im besonderen die junge Serumtherapie aus seinen Forschungen die größten Vorteile gezogen hat und noch zieht. Ehrlichs Diphtherie-Wertbemessungsmethode wird heute mit wenigen Ausnahmen in den wissenschaftlichen Instituten und in den Serumfabriken der ganzen Welt angewandt. Das nach seinen Prinzipien im Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. unter den größten Vorsichtsmaßregeln konservierte Standardmaß geht seit Jahren regelmäßig in alle Länder hinaus und dient zurzeit fast auf der ganzen Welt, wo Diphtherieserum gewonnen wird, als Grundlage der Wertbemessung.

Was Paul Ehrlich der Wissenschaft und der Praxis durch seine grundlegenden Immunitätsstudien genützt hat, das in vollem Umfange zu übersehen und zu bewerten, ist heute noch nicht möglich. Zweifellos wird die von ihm ausgestreute Saat auch in Zukunft noch vielfältige Früchte tragen, und seine genialen Gedanken werden noch für lange Zeit die Grundlage wissenschaftlicher und praktischer Immunitätsarbeiten bilden. Mögen ihm noch viele Jahre erfolgreichen Forschens und Schaffens beschieden sein.

2.

# Die Seitenkettentheorie.

Von

**A. von Wassermann,**

Berlin.

Wenn wir das bisherige gewaltige wissenschaftliche Lebenswerk Paul Ehrlichs betrachten, so nimmt die Seitenkettentheorie in demselben zweifellos eine, ja vielleicht die hervorragendste Stellung ein. Es mag im ersten Augenblick befremdlich erscheinen, daß wir angesichts der großen Zahl unvergleichlicher, tatsächlicher Funde und Entdeckungen, die sich an Paul Ehrlichs Namen knüpfen, gerade einer Theorie diese Bedeutung zuerkennen. Aber in dieser Theorie kommt das Genie Ehrlichs, das wir so sehr bewundern, und dem wir, wie erwähnt, so viele neue Tatsachen in Medizin und Chemie verdanken, in seiner reinsten Form zum Ausdruck. — Wie wir jede große Individualität noch nach Jahrhunderten aus jedem ihrer Werke erkennen, so daß wir ohne weiteres, auch aus einem nicht signierten Bilde den Meister, der es fertigte, zu bestimmen vermögen, so trägt jede Arbeit Ehrlichs den seinem Genie entsprechenden Stempel. Daraus geht hervor, daß sich auch durch Ehrlichs Lebenswerk ein Kardinalgedanke verfolgen läßt, der den Schlüssel zu seinen Erfolgen, aber auch den Grundzug seines wissenschaftlichen Denkens bildet. Und dieser spezifisch Ehrlichsche Gedankengang tritt uns am reinsten in der Seitenkettentheorie entgegen. Wir können aber weiter feststellen, wie auch dies bei den meisten Schöpfern der Fall ist, daß dieser beherrschende Gedanke, mit elementarer Kraft von innen heraus entstehend, bereits bei dem Jüngling klarst bestand; denn schon in dem „Sauerstoffbedürfnis des Organismus“[1]), jenem bewundernswerten Schatze neuer Ideen und Vorstellungen finden wir die

[1]) Berlin (Hirschwald), **1885** [*30*].

Grundlagen der Seitenkettentheorie verzeichnet, obwohl diese selbst erst viele Jahre später Gestaltung annahm.

Was bedeutet nun diese Theorie? Sie ist anfänglich nur zu dem Zwecke aufgestellt, um das Rätsel der Entstehung spezifischer Immunstoffe im Blute unserem Verständnisse näher zu bringen. Viele Hypothesen und Vermutungen waren bis dahin über diesen Punkt aufgestellt worden. Aber alle waren nur ephemere Erscheinungen, da sie schon bei ihrem Auftauchen mit so vielen tatsächlichen Befunden im Widerspruch standen, daß es ein Leichtes war, die Unstimmigkeiten zwischen Theorie und experimentellem Ergebnis beinahe rechnerisch nachzuweisen. So schien es eine Zeitlang beinahe, als ob auch für diesen Teil der biologischen Forschung das resignierende Wort du Bois-Reymonds „ignorabimus" Geltung haben würde. Da gab uns Ehrlich[2]) mit seiner Seitenkettentheorie den Stab in die Hand, um in diesem Flugsand von Meinungen festen Fuß zu fassen.

Die Seitenkettentheorie geht von dem scheinbar selbstverständlichen, aber doch so echt Ehrlichschen Gedanken aus, daß eine körperfremde Substanz eine Wirkung auf ein Organ nur dann ausüben kann, wenn sie in Berührung mit diesem gelangt. „Corpora non agunt, nisi fixata." Dieser Satz ist der Grundstein der Seitenkettentheorie, ist der leitende Gedanke Ehrlichs, ist der Quell der modernen experimentellen Therapie. —

Ehrlich (vgl. hierzu u. a. [3—9]) weist nun darauf hin, daß eine solche Fixierung zwischen Substanz und Organzelle auf zweierlei Art zustande kommen kann. Erstlich auf physikalischem und zweitens auf chemischem Wege. Beide Arten kommen vor. Die erste in Form der sogenannten lockeren Speicherung und physikalischen Adsorption, wie wir sie am typischsten bei der Wirkung von Narcotica auf das Gehirn beobachten können. Wenn wir also sehen, daß das Chloroform eine Wirkung auf das Zentralnervensystem ausübt, so ist es erstes Erfordernis, daß dasselbe auch wirklich in Berührung mit den Zentralnervenzellen kommt. Das ist tatsächlich der Fall, wie wir uns ja jederzeit bei einem vergifteten Tiere überzeugen können. Der Weg, wie diese Substanz in das Zentralnervensystem gelangt, ist ein rein physikalischer, indem das Chloroform

[2]) Klin. Jahrbuch, **VI**, 299, **1897** [*60*].
[3]) Proc. of the Royal Society **LXVI**, 424, **1900** [*70*].
[4]) Schlußbetrachtungen zur „Anämie", Nothnagels Handbuch, **VIII**, **1901** [*75*].
[5]) Deutsche med. Wochenschr., H. 50/52, **1901** [*71*].
[6]) v. Leyden-Festschrift I, **1902** [*76*].
[7]) Handbuch der pathog. Mikroorganismen (I. Auflage), **IV**, 432, **1904** [*200*].
[8]) Handbuch der Immunitätsforschung, **I**, 1, **1907/08** [*98*].
[9]) Beitr. z. exp. Pathol. u. Chemother., S. 3 u. S. 203, Leipzig, **1909** [*99*, *109*].

weit besser löslich in fettlösenden Substanzen als in Wasser ist. Demzufolge wird es von dem so fettreichen Gehirn auf rein physikalischem Wege aus dem wässerigen Blute, wie in einem Scheidetrichter, gleichsam ausgeschüttelt. Bei diesen physikalischen Vorgängen kommt es nun zu einer nur lockeren Speicherung der betreffenden Substanz in dem Organ, wie aus dem bekannten Stas-Ottoschen Verfahren hervorgeht, indem eben ein noch besseres Lösungsmittel, als wie es die Fette des Zentralnervensystemes darstellen, die betreffende Substanz ohne weiteres wieder aus dem Organ herauszieht.

Der zweite Weg, wie Substanzen aus dem Blut heraus an Organzellen fixiert werden können, ist rein chemisch und beruht darauf, daß gewisse Körper zu bestimmten Zellen eine richtige chemische Verwandtschaft haben. Diese Vorgänge hat Ehrlich selbst (l. c. [6]) in instruktivster Weise bei seinen grundlegenden Infusionen von Tieren mit chemischen Giftsubstanzen und Farbstoffen festgestellt. So konnte er eine Verbindung, das Vinylamin, finden, welches nur zu den Nierenpapillen Verwandtschaft zeigte[10]). Vom Methylenblau konnte er die spezifisch-chemische Verwandtschaft zu gewissen Teilen des Nervensystems feststellen[11]). Andere Substanzen zeigten die gleiche Verwandtschaft wie die Trichinen zu bestimmten Muskelsystemen im Auge, Kehlkopf usw. Derartige chemische Bindungen von Substanzen an Organzellen werden durch eine echte gegenseitige Affinität bedingt.[12]) Demgemäß ist hier die Verbindung zwischen Substanz und Zelle eine viel festere. Ja, diese Bindung wird häufig so innig, daß die kraft ihrer chemischen Affinität in eine Zelle eingetretene Substanz völlig in dem Komplex der Zelle aufgeht, d. h. als solche gar nicht mehr nahzuweisen ist, also richtig assimiliert wird. Die stärkste Form der chemischen Bindung einer Substanz an Körperzellen ist demnach der Assimilierungsprozeß, wie wir ihn von der Ernährung her kennen. Durch diesen Gedankengang kam Ehrlich, in wahrhaft prophetischer Intuition der Entwicklung der Wissenschaft vorauseilend, dazu, auf die Analogie des Verhaltens von Nährstoffen mit immunisierungsfähigen Antigenen hinzuweisen. In der Seitenkettentheorie fordert nämlich Ehrlich als erste Bedingung dafür, daß man gegen eine Substanz echt immunisieren, d. h. Antikörper erzielen kann, sie sich also wie ein Antigen verhält, die Fähigkeit, sich wie ein Nährstoff zu verhalten, d. h. mit irgendeiner Zellensubstanz im Organismus kraft einer chemisch aviden Gruppe eine feste chemische Bindung eingehen zu können. Er faßt also

[10]) Vgl. Levaditi, Arch. internat. de Pharmacodynamie, **VIII**, 45, **1901** [*406*].
[11]) Deutsche med. Wochenschr., H. 4, **1886** [*36*].
[12]) Vgl. Rehns, Arch. internat. de Pharmacod. et de Thér. **VIII**, 203, **1901** [*513*].

die immunisierungsfähigen Antigene gleichsam als Nährstoffe auf, die nur aus irgendwelchem Grunde neben ihrer Assimilierungsfähigkeit noch eine andere funktionelle Wirkung auszuüben imstande sind. — Diese funktionelle Wirkung kann ganz verschieden sein. Sie kann, wie bei den Toxinen, exquisit schädigend oder bei den Fermenten physiologisch abbauend oder endlich, wie bei körperfremdem Eiweiß, indifferent wirken, so daß bei letzterem nur die Ernährungsquote zum Vorschein kommt. So ist es ohne weiteres verständlich, daß nach dieser Auffassung die Seitenkettentheorie an jedem echten Antigen zwei Gruppen unterscheidet: die erste, welche kraft ihrer spezifisch chemischen Affinität zu gewissen Substanzen in Organzellen die Bindung des Antigens an diese vermittelt, die zweite, die funktionelle Gruppe, welche die Trägerin der spezifischen physiologischen oder pathogenen Funktion des betreffenden Antigens darstellt. Die erstere bezeichnet Ehrlich als die sogenannte haptophore Gruppe; die zweite belegt er mit dem Namen der betreffenden Funktion, also beispielsweise bei Toxinen als toxophore, bei Fermenten als zymophore Gruppe. Wir können also bereits hieraus ersehen, daß der wesentlichste Fortschritt und das Neue darin bestand, daß Ehrlich die körperliche Auffassung der Moleküle aus der Chemie auf diese biologischen Probleme übertrug und somit, wie wir im weiteren Verlauf sehen werden, die bis dahin ganz rätselhaften Verhältnisse zwischen Toxin und Antitoxin und anderen Antigenen und ihren zugehörigen Antikörpern auf rein chemische Gesetze zurückführte.

Fahren wir in der Besprechung der Seitenkettentheorie fort, so ist ohne weiteres ersichtlich, daß von den beiden nach Ehrlich an jedem Antigenmolekül vorhandenen Gruppen, nämlich der haptophoren und funktionellen, für die Auslösung von Antikörpern die erstere weitaus die wichtigere sein muß. Denn Ehrlich, bezugsweise die Seitenkettentheorie, stellt ja als erstes Postulat für die Möglichkeit, gegen eine Substanz zu immunisieren, die Forderung, daß diese Substanz sich wie ein Nährstoff verhält, d. h. die festeste Form der chemischen Bindung mit Zellen einzugehen vermag. Hierfür kommt in ausschlaggebender Weise die haptophore Gruppe in Betracht. Ja, Ehrlich sieht in dem Mangel einer solchen Gruppe bei differenten Substanzen, beispielsweise den Alkaloiden usf. die Ursache, weshalb gegen diese eine echte Immunität unter Auftreten von Antikörpern nicht zu erzielen ist (vgl. hierzu auch die negativen Immunisierungsergebnisse aus dem Laboratorium Ehrlichs mit Solanin (Bashford)[13]) und Morphin (Morgenroth).[14])

[13]) Arch. internat. de Pharmacod. et de Thérapie, **VIII**, 101, **1901** [*247*].
[14]) Berl. klin. Wochenschr., H. 21, **1903** [*450*].

Entsprechend der haptophoren Gruppe am Antigen befinden sich nach der Seitenkettentheorie in der für dieses Antigen empfindlichen Zelle gewisse Komplexe, welche stärkste chemische Verwandtschaft zu der haptopheren Gruppe besitzen und kraft dieser Affinität eine feste chemische Bindung einzugehen vermögen. Diese Teile der Zelle bezeichnete Ehrlich früher als Seitenketten, später als Rezeptoren. Die Beziehungen zwischen Rezeptor und haptophoren Gruppe sind rein stereochemisch aufzufassen, also nach Art, wie dies Emil Fischer für die Fermente und die ihrer Wirkung unterliegenden Substanzen zuerst aufgestellt hat, ein Verhalten, das er mit dem bekannten Gleichnis von dem in ein Schloß einpassenden Schlüssel dem Verständnisse näher brachte. Biologisch ausgedrückt, müssen wir also sagen, daß die Beziehungen zwischen Rezeptor und haptophorer Gruppe auf einer spezifisch chemischen Affinität beruhen. Nach dieser Vorstellung ist es nun ohne weiteres verständlich, daß, wenn ein Antigen in einen lebenden Organismus gelangt, welcher passende Rezeptoren für dasselbe besitzt, dieses infolge der chemischen Verwandtschaft seiner haptophoren Gruppe an die Rezeptoren herangehen und gebunden werden muß. Damit ist die erste Bedingung für eine Organwirkung erfüllt, indem nun die Substanz mit lebenden Zellen in Kontakt gekommen ist. Wenn aber dies eingetreten ist, so ist nunmehr ein Zellbestandteil des lebenden Organismus von einer dem normalen Leben fremden Substanz besetzt. Dadurch wird derselbe in seinen sonstigen physiologischen Funktionen gestört, bezugsweise ausgeschaltet. Es entsteht also ein, wenn auch unter Umständen minimaler und daher für die gewöhnliche Betrachtung nicht in Erscheinung tretender Defekt in der Zellleistung. Der Organismus duldet aber auf die Dauer keinerlei Ausfall in seinen normalen Bestandteilen, sondern er sucht diesen, solange er regenerationsfähig ist, sofort nicht nur allein wieder auszugleichen, sondern nach dem Weigertschen Gesetze sogar zu überkompensieren. Nach dem genannten Weigertschen Gesetze muß also, falls durch Einverleibung eines Antigens, um uns rechnerisch eine Vorstellung zu geben, tausend Rezeptoren besetzt und für den normalen Haushalt des Organismus dadurch ausgeschaltet wurden, als Folge davon nicht nur eine Regeneration von genau wieder tausend Rezeptoren, sondern weit über dieses Maß hinaus von vielen Tausenden erfolgen. Wiederholen wir nun derartige Einverleibungen von Antigen, wie wir dies bei der künstlichen Immunisierung von Tieren tun, oder wie es bei der längere Zeit stündlich und minütlich erfolgenden Resorption von Antigen bei Spontanerkrankungen an Infektionsprozessen der Fall ist, so ist es leicht verständlich, daß durch diese fortdauernde Summierung von biologischen Ausfällen und konsekutiven Überkompensierungen ein Zustand kommen muß, in welchem das be-

treffende Organ nun an diesen Rezeptoren gegenüber der Norm überreich geworden ist. Die Folge davon ist, daß nun diese überschüssigen Rezeptoren aus dem Organ heraus in das Blut abgestoßen werden. Diese in Überschuß regenerierten und nunmehr im Blute frei kreisenden Rezeptoren stellen nach der Seitenkettentheorie die Antikörper dar. Ohne weiteres wird jeder zugeben, daß es sich bei dieser Auffassung um eine verblüffend einfache Erklärung des scheinbar so komplizierten und rätselhaften Vorganges der Antikörperbildung, also des eigentlichen Dunkels der Immunität handelt. Aber ebenso klar wird es jedem sein, daß diese Theorie, um uns, eben wegen dieser Einfachheit, glaubhaft zu erscheinen, erst vielfacher experimenteller Stützen bedarf.

Wenn ich mich damit zur Begründung der Seitenkettentheorie wende, so möchte ich zunächst darauf hinweisen, daß die Schwierigkeit in der Vorstellung, wie und weshalb die Abstoßung der im Überschusse gebildeten Rezeptoren in das Blut erfolgen soll, heute für uns nicht mehr in dem Maße besteht, wie beim Bekanntwerden der Theorie. Wir wissen heute, und ich habe bei Gelegenheit eines Vortrages darauf hingewiesen (Münch. med. Wochenschr. 1913), daß Ehrlich vollständig ins Schwarze getroffen hatte, als er von Anbeginn an seinen Rezeptoren einen hauptsächlichen Zusammenhang mit der Ernährung zuerkannte, sofern wir darunter den Vorgang verstehen, der jeder Ernährung zugrunde liegt, d. h. den biochemischen Abbau der Nährstoffe. Dieser Abbau kann, wie wir wissen, nur durch Stoffe geschehen, die wir, mangels besserer Kenntnis, heute vorläufig als Fermente bezeichnen. Die Rezeptoren sind also auf bestimmte Antigene eingestellte Substanzen, welche imstande sind, diese abzubauen, d. h. aus aphysiologischen Molekülen physiologische zwecks Assimilierung zu machen. Nun haben uns vielfache Versuche weiter gelehrt, daß alle Fermente ungemein rasch sich vermehren, wenn wir diejenige Substanz, auf welche das Ferment eingestellt ist, in erhöhtem Maße einführen. Wenn wir Gelatine injizieren, so können wir im Blutserum alsbald einen verstärkten Gehalt an Gelatine lösendem Ferment nachweisen (vgl. Metschnikoff, L'immunité dans les maladies infectieuses. Paris 1901). Ganz analog müssen sich bei Bindung eines bestimmten Antigens an Zellen in diesen letzteren diejenigen Substanzen, welche den Abbau dieses Antigens zwecks Assimilierung besorgen, d. h. die Rezeptoren, vermehren. Es ist nun ohne weiteres klar, daß, wenn diese Substanzen sich so weit vermehrt haben, daß der intrazellulare Druck größer ist, als der Druck in den um die Zellen befindlichen Kapillarräumen, ein Übertritt in die letzteren, d. h. das Blut statt haben muß. Ich halte es nicht für ausgeschlossen, daß man bei geeigneter Versuchsanordnung mit sehr feinen Meßinstrumenten diese Zunahme des Druckes in Organen, kurze Zeit nach oder während der

Einverleibung und Resorption geeigneter Antigene direkt nachweisen könnte. — Indessen, wenn, wie gesagt, auch heute diese Vorstellung unserem Verständnisse vollständig geläufig ist, und wir per analogiam zahlreiche Belege dafür besitzen, so ist dieser Teil der Seitenkettentheorie, nämlich das Übertreten der vermehrten Rezeptoren in die Blutbahn bis heute experimentell noch nicht bewiesen. Anders dagegen steht dies mit der Frage nach den experimentellen Belegen für die Richtigkeit der Seitenkettentheorie in bezug auf ihre Erklärung der bei der Immunität uns entgegentretenden Erscheinungen. In dieser Hinsicht liegen ungemein viele experimentelle Beweise vor.

Machen wir uns zu diesem Behufe die Seitenkettentheorie zu eigen, und überlegen wir, was geschehen muß, wenn wir einem Tiere, das in seinen Organen einpassende Rezeptoren besitzt, Antigen einverleiben. Nach Ehrlich muß alsdann das letztere sofort an die Rezeptoren herangehen, d. h. in dem betreffenden Organe verankert werden. Wenn wir demnach ein derartiges Antigen in die Blutbahn spritzen, so muß sich das so äußern, daß dasselbe sehr rasch aus dem Blute verschwindet. Tatsächlich haben die bekannten Versuche von Dönitz[15])[16]) bei Diphtherie und Tetanus das Zutreffen dieser Forderung ergeben. Machen wir aber das gleiche bei einem Tiere, das nur sehr wenige oder keine Rezeptoren für dieses Antigen besitzt, so müßte dieser Versuch nach der Seitenkettentheorie so verlaufen, daß das in das Blut eingespritzte Antigen verlangsamt, eventuell überhaupt nicht verschwindet. Auch dieses trifft experimentell völlig zu. Denn wenn wir beispielsweise einer Taube, die für Tetanustoxin sehr wenig empfänglich ist, also sehr wenige, bezugsweise nur Rezeptoren mit geringer Affinität besitzt, Tetanustoxin in die Blutbahn bringen, so kreist dieses tagelang dortselbst, während es, wie schon erwähnt, bei den für Tetanus höchst empfindlichen Tieren, wie Meerschweinchen nach Dönitz schon nach wenigen Minuten aus dem Blute herausgezogen wird. Und nehmen wir gewisse Kaltblüter, wie beispielsweise den Alligator, der überhaupt nicht an Tetanus erkrankt, demzufolge nach der Seitenkettentheorie keine Rezeptoren für dieses Antigen besitzen darf, so konnte Metschnikoff zeigen, daß in der Tat bei diesem Tiere das Tetanustoxin Monate lang unverändert im Blute nachzuweisen ist.

Auch die weitere Forderung der Seitenkettentheorie, daß jedes Antigen, stereochemisch betrachtet, zwei getrennte Gruppen besitzt, ist in klarer Weise experimentell bewiesen. Hierher gehören (l. c. [2] u. [17], [18], [19]) vor

[15]) Deutsche med. Wochenschr., H. 27, **1897** [*334*].
[16]) Arch. internat. de Pharmacod. et de Thér., **V**, 425, **1899** [*336*].
[17]) Deutsche med. Wochenschr., H. 38, **1898** [*62*].
[18]) Therapie der Gegenwart, N. F. **III**, 193, **1901** [*72*].
[19]) University Record, **IX**, 65, **1904** [*85*].

allem die Studien Ehrlichs über die Toxoidbildung, die Tatsache nämlich, daß Toxinmoleküle in ihrer Giftigkeit ungemein herabgesetzt werden können, trotzdem aber ihre bindende Kraft, also die haptophore Gruppe, völlig bewahren. Das gleiche, was hier von Toxinen gesagt wird, ist ebenso für Agglutinine[20]), Komplemente[21]), Fermente[22]), also eine große Reihe von Antigenen nachgewiesen, so daß wir es heute als ein mit der Seitenkettentheorie vollkommen in Übereinstimmung befindliches und experimentell bewiesenes Gesetz hinstellen können, daß die an ihren Antikörpern gemessene Kraft der Bindungsgruppe unabhängig und verschieden ist von der Äußerung der funktionellen Gruppe. Besonders schön tritt uns der Beweis für das tatsächliche getrennte Vorhandensein dieser beiden Gruppen auch in den Versuchen Morgenroths über Tetanus bei Fröschen entgegen. Morgenroth[23]) konnte nämlich auf Grund der von Courmont und Doyon gefundenen Tatsache, daß Frösche nicht in der Kälte, wohl aber bei 37° an Tetanus erkranken, mit Hilfe nachfolgender Antitoxininjektionen den einwandfreien Nachweis erbringen, daß in der Kälte die haptophore Gruppe und erst in der Wärme auch die toxophore Gruppe des Tetanustoxins in Wirksamkeit tritt, demnach diese beiden Gruppen getrennt vorhanden sein müssen. Somit sehen wir, daß die Postulate dieser Theorie, soweit sie das Antigen betreffen, experimentell tatsächlich belegt sind. Wenden wir uns nun zu dem Teil der Seitenkettentheorie, welcher sich mit der biologischen Beschaffenheit der Zelle befaßt, so lag es dem Experimentator ob, zu prüfen, ob tatsächlich entsprechend der Theorie Rezeptoren im lebenden Organismus vorhanden sind, welche das Antigen in spezifischer Weise fest an sich zu binden vermögen. In diesem Sinne sprechen ja die bereits erwähnten Versuche von Dönitz (l. c. [15], [16]) über das Verschwinden von Antigenen aus der Blutbahn. Direkt nachgewiesen aber wurde das Vorhandensein solcher spezifischer Rezeptoren zuerst von Wassermann und Takaki (Berl. klin. Woch., H. 1; 1898) in den Organen tetanusempfindlicher Tiere. Mischt man nämlich die normale Zentralnervensystemsubstanz von Meerschweinchen mit Tetanustoxin und zentrifugiert dann den Gehirnbrei ab, so zeigt sich, daß die obenstehende Flüssigkeit von Tetanusgift frei ist, das Gehirn sich also mit dem Tetanustoxin beladen hat. Wäscht man die zentrifugierten Gehirnmassen mit physiologischer Kochsalzlösung, so geht in das Waschwasser kein Tetanustoxin über, mazeriert man dagegen die Gehirnbröckel durch mehrere Tage mit hypertonischer Kochsalzlösung, so daß das Gehirngewebe völlig zerstört wird, so erscheint

[20]) Vgl. Shiga, Zeitschr. f. Hyg., **XLI**, 355, **1902** [*582*].
[21]) Vgl. Ehrlich und Sachs, Berl. klin. Wochenschr., H. 21, **1902** [*206*].
[22]) Vgl. Korschun, Zeitschr. f. physik. Chemie, **XXXVII**, 366, **1903** [*390*].
[23]) Arch. internat. de Pharmacod. et de Thér., **VII**, 265, **1900** [*447*].

das Gift wieder. Es zeigt sich also daraus, daß das Zentralnervensystem des Meerschweinchens Substanzen besitzt, welche das Tetanustoxin fest binden (vgl. hierzu auch Marx[24]). Daß es die Zellen des Zentralnervensystems sind, welchen diese Funktion zukommt, geht aus den Versuchen von Dönitz hervor, wonach nur die graue, aber nicht die weiße Substanz des Gehirns diese Wirkung hat. Daß es sich um einen spezifischen Vorgang handelt, ergibt sich weiterhin daraus, daß das Gehirn bei der gleichen Versuchsanordnung beispielsweise Diphtherietoxin nicht zu binden vermag. Ja, man kann gerade beim Tetanus durch einwandsfreie Bindungsversuche im Reagenzglase eine bis ins Detail gehende experimentelle Bestätigung der Seitenkettentheorie, was die Rezeptoren angeht, führen. Macht man nämlich den gleichen Versuch, wie er soeben für Meerschweinchen beschrieben, mit den Organen von Kaninchen, so findet man, daß hier nicht, wie beim ersteren Tiere, nur das Zentralnervensystem, sondern auch andere Organe, beispielsweise die Muskeln, Tetanusgift in vitro zu binden vermögen. Daraus müssen wir den Schluß ziehen, daß bei diesem Tiere die Rezeptoren nicht nur im Zentralnervensystem, sondern auch in anderen Organen, besonders in den Muskeln, zerstreut sind. Das Experiment in vivo bestätigt nun diese Tatsache vollständig, indem Dönitz (l. c. [15]) zeigen konnte, daß beim Kaninchen der Tetanus nicht nur allein, wie beim Meerschweinchen unter dem typischen Bild der tonisch-klonischen Krämpfe, sondern auch in Form einer Kachexie, dem sog. „tetanus sine tetano" vorkommt. Ganz besonders schön stimmen aber hiermit und so auch mit der Seitenkettentheorie die Versuche von Roux überein, welcher zeigte, daß beim Meerschweinchen die letale Dose für das Tetanustoxin ganz gleich ist, ob man diese subkutan, in die Blutbahn oder direkt in das Gehirn einspritzt, daß dagegen beim Kaninchen die tödliche Dosis ungleich viel größer sein muß bei subkutaner, als bei direkter Einführung ins Zentralnervensystem. Die Erklärung geht aus den soeben angeführten Bindungsversuchen von selbst hervor, indem eben beim Kaninchen die Rezeptoren in verschiedenen Organen zerstreut liegen, so daß bei der subkutanen Einverleibung nur ein Teil des Giftes in das Zentralnervensystem gelangt, ein anderer aber in Organen, wo sie keine Krämpfe hervorrufen können, abgefangen wird, was beim Meerschweinchen, das seine Rezeptoren einzig und allein im Zentralnervensystem besitzt, nicht der Fall ist.

Dieser Nachweis der spezifischen festen Bindung zwischen lebender tierischer Zelle und Antigen ist dann später noch vielfach gelungen. So besonders schön in der Versuchen von Sachs über die Bindung zwischen Kreuzspinnengift und Blutkörperchen. Sachs[25]) konnte zeigen,

[24]) Zeitschr. f. Hyg., **XL**, 231, **1902** [*432*].

[25]) Beitr. z. chem. Phys. u. Pathol. **II**, 125, **1902** [*537*].

daß nur die Blutkörperchen derjenigen Tiere dieses Gift in vitro zu verankern vermögen, für welche das Arachnolysin ein Blutgift darstellt. Das geht soweit, daß die Blutkörperchen von jungen Hühnern, welche für dieses Gift noch unempfindlich sind, keine Bindung zeigen, während es diejenigen Blutzellen älterer Hühner, für welche das Arachnolysin stark toxisch ist, in ausgesprochenem Maße zu binden vermögen[26]). Fernerhin wurde die Bindung in vitro zwischen Dysenterietoxin und Schleimhaut des Dickdarms bei Kaninchen, diejenige von Staphylolysin und Kaninchenblutkörperchen von M. Neisser und Wechsberg[27]) experimentell dargetan, um nur noch einige Beispiele zu nennen. Es ist also auch die Forderung der Seitenkettentheorie über das Vorhandensein von Substanzen an tierischen Zellen, welche mit Antigenen eine spezifische feste Bindung einzugehen vermögen, nicht nur allein einmal, sondern wir können ohne Übertreibung sagen, gesetzmäßig experimentell bewiesen.

Wenn wir uns nun zu der Frage wenden, wie es mit den Belegen für die Behauptung der Seitenkettentheorie, daß diese Rezeptoren quantitativ veränderliche, d. h. vermehrungsfähige Substanzen sind, steht, so geht schon aus den eben besprochenen Versuchen von H. Sachs hervor, daß diese Gebilde bei Hühnerblutkörperchen sich erst im späteren Leben vermehren, bezugsweise ausbilden. Eine direkte Vermehrung von Rezeptoren, d. h. spezifisch bindenden Substanzen, hat dann besonders schön Römer durch seine Versuche mit Abrin am Auge konstatiert. Dieser Autor konnte nämlich zeigen, daß, wenn man Abrin lokal in ein Kaninchenauge träufelt, dieses nicht nur allein immun für dieses Gift wird, sondern Hand in Hand damit entsprechend den Forderungen der Theorie infolge Neubildung von Rezeptoren ein stärkeres Bindungsvermögen für das Abrin zeigt als das andere unbehandelte Auge. Auch die Versuche von Dungerns mit artfremdem Eiweiß, aus denen hervorgeht, daß bei einem vorbehandelten Tiere das körperfremde Eiweiß schneller aus der Blutbahn verschwindet, also mehr Rezeptoren entstanden sein müssen, ist eine experimentelle Bestätigung der Ehrlichschen Forderung. Ebenso sprechen die gesamten neueren Erfahrungen über die lokale Bildung der Antikörper ganz im Sinne der Seitenkettentheorie, doch würde es natürlich zu weit führen, hier alle diese Experimente im einzelnen aufzuzählen.

Was nun endlich die Behauptung der Seitenkettentheorie angeht, daß die haptophore Gruppe, also die Bindung das Ausschlaggebende für das Auftreten der echten Immunität ist, so ist dieser Punkt bereits von

[26]) Centralbl. f. Bakt. **XXXIV**, 686, **1903** [*541*].
[27]) Zeitschr. f. Hyg., **XXXVI**, 299, **1901** [*489*].

Ehrlich selbst zwingend bewiesen worden, indem sich zeigte, daß man mit Toxoiden, die also in ihrer funktionellen Gruppe äußerst herabgesetzt sind, noch zu immunisieren imstande ist. Freilich scheint es, daß ein gewisser Reiz, der zum Teil von der funktionellen Gruppe abhängig ist, nötig ist, um die Abstoßung bezugsweise Sekretion der Seitenketten in nennenswertem Maße zu besorgen. Denn es ist beispielsweise nicht gelungen, mit völlig atoxischen Toxinen Antitoxine im Serum zu erhalten. Man erhält vielmehr bei solchen Experimenten den Eindruck, daß die Bindung so erfolgen muß, daß dadurch ein gewisser Reiz auf die Zelle ausgeübt wird. Ich schlug daher für diesen Vorgang den Ausdruck „Bindungsreiz" vor, womit ausgedrückt werden soll, daß wohl nur die Bindung in Frage kommt, aber eine Bindung, die physiologisch nicht indifferent sein darf. In ähnlicher Weise hatte wohl auch Ehrlich[28]) wegen des oft ungewöhnlich hohen Maßes der Neubildungsvorgänge an „einen bestimmten durch das Toxin- oder Toxoidmolekül hervorgerufenen besonderen Zellreiz" gedacht. Rekapitulieren wir also das bisher Gesagte, so ersehen wir, daß von der Seitenkettentheorie heute experimentell nachgewiesen ist das Vorhandensein zweier verschiedener Gruppen am Antigen, das Vorhandensein spezifischer Substanzen in den Zellen, welche imstande sind, mit dem Antigen eine feste Bindung einzugehen, ferner die Vermehrungsfähigkeit dieser Substanzen in den Organen, endlich die ausschlaggebende Wichtigkeit der haptophoren Gruppe für den Immunisierungsvorgang.

Fahren wir nun weiter fort, die Übereinstimmung der Immunitätsphänomene mit der Seitenkettentheorie experimentell zu prüfen, so müssen wir uns zunächst ins Gedächtnis zurückrufen, daß nach dieser Theorie die Antikörper nichts weiter sind als die in die Körpersäfte abgestoßenen übermäßig produzierten Rezeptoren. Die Spezificität der Antikörper ergibt sich aus dieser Auffassung von selbst, indem ja die Theorie von vornherein behauptet, daß der Rezeptor in spezifisch stereochemischen Beziehungen zur haptophoren Gruppe des Antigens steht. Es kann daher eine bestimmte haptophore Gruppe, d. h. ein bestimmtes Antigen, immer nur die auf sein Molekül einpassenden Rezeptoren zu übermäßiger Bildung und Abstoßung bringen. Die Spezificität der Rezeptoren ist, wie aus den bereits oben angeführten Versuchen von Wassermann und Takaki, H. Sachs, M. Neisser und vielen anderen hervorgeht, experimentell erwiesen. Auch die neutralisierende Wirkung der Antikörper geht aus dieser Auffassung von selbst hervor, indem eben

[28]) Vgl. Ehrlich und Morgenroth in Emmerich-Trillichs Anleitung zu hygien. Untersuchungen, **III**. Aufl., München, **1902** [*198*].

die Rezeptoren, welche außerhalb des Organes kreisen, die haptophore Gruppe schon vor ihrem Eintritt in das Organ besetzen und daher durch Verstopfung derselben eine Wirkung auf das lebende Organ unmöglich machen. Ehrlich hat ja dieses Verhältnis durch seinen treffenden viel zitierten Vergleich vom Blitzableiter in und außerhalb des Hauses selbst am besten illustriert. Also über die Frage, ob diese Auffassung geeignet ist, die Kardinalpunkte der Immunsubstanzen, ihre Spezifizität und ihr antagonistisches Verhalten gegenüber dem Antigen, zu klären, kann ein Zweifel nicht bestehen. Die Frage ist nur, ob wir Beweise dafür haben, daß die Antikörper tatsächlich identisch mit den Rezeptoren sind? Darauf gibt eine einfache Betrachtung und experimentelle Prüfung, beispielsweise der bakteriziden oder opsonischen Immunität eine geradezu verblüffend bejahende Antwort, wie die grundlegenden Experimente Ehrlichs und seiner Mitarbeiter Morgenroth u. a. m. über die spezifischen Bindungsverhältnisse zwischen Antigen und Immunsubstanzen lehrten. Nehmen wir hierfür als Beispiel die Vorgänge bei der Immunisierung eines Tieres gegen Typhus, und betrachten wir diese unter dem Gesichtspunkte der Seitenkettentheorie, so lehrt uns diese, daß die während des Immunisierungsprozesses auftretenden spezifischen Typhusimmunstoffe, Agglutinine, Ambozeptoren usw. nichts anderes seien als die in das Blut abgestoßenen Rezeptoren. Dieselbe Theorie behauptet aber, daß zwischen diesen Rezeptoren und den haptophoren Gruppen des Antigens, also den Typhusbazillen, die Beziehungen der spezifisch chemischen Bindung bestehen. Demzufolge müssen wir also experimentell, wenn diese Ansicht zutrifft, die gleichen Beziehungen der Bindung zwischen den Antikörpern und den Typhusbazillen nachweisen können. Gerade dieser Nachweis ist aber, wie allgemein bekannt, Ehrlich und Morgenroth[29]) am Beispiel der hämolytischen Ambozeptoren und ihrer zugehörigen Antigene und im Anschluß an diese Versuche dann für alle Antigene und Antikörper gelungen, ein Phänomen, das unter dem Namen der „elektiven Adsorption" in die tägliche serologische Praxis übergegangen ist. Wir brauchen nur korpuskuläre Antigene mit zugehörigem Antikörper zu mischen und abzuzentrifugieren, um uns zu überzeugen, daß der Antikörper in spezifischer Weise fest an sein zugehöriges Antigen gebunden wird, daß also das Experiment völlig im Einklang mit den Lehren der Seitenkettentheorie steht. Und genau das gleiche, was wir hier für Agglutinine und Ambozeptoren auseinandergesetzt haben, gilt für den Vorgang der Phagocytose, der in den ersten Zeiten der Seitenkettentheorie mit dieser letzteren scheinbar absolut nicht in Einklang zu bringen war.

[29]) Vgl. Ehrlich und Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr., H. 1, **1899** [*192*].

Denn auch für diesen Vorgang zeigte sich durch die Studien von Denys, A. E. Wright und Neufeld das Vorhandensein einer spezifischen Substanz im Serum, welche bis ins kleinste mit den Lehren der Theorie übereinstimmt. Auch bei den sogenannten Bakteriotropinen und Opsoninen ist die spezifische Bindungsaffinität zu ihrem Antigen ausnahmslos nachweisbar. Auch sie verhalten sich also, wie es Ehrlich als Forderung für echte Rezeptoren aufstellt.

Prüfen wir endlich als dritten großen Repräsentanten der spezifischen Immunstoffe die Antitoxine in ihrem Verhalten gegenüber dem Antigen, den Toxinen, auf ihre Übereinstimmung mit der Seitenkettentheorie, so können wir auch hier die experimentelle Bestätigung erbringen. Ja, gerade bei den Antitoxinen ist diese so in die Augen springend, daß von ihnen ausgehend Ehrlich die Theorie aufstellte. Als Grundprinzip müssen wir bei der experimentellen Prüfung auch hier wieder festhalten, daß die Bindung zwischen haptophorer Gruppe des Antigens und Rezeptor der Ausgangspunkt für jedes Immunitätsphänomen, und daß der Antikörper identisch mit dem Rezeptor sei. Demzufolge sind nach der Seitenkettentheorie auch die Antitoxine im Blut kreisende Rezeptoren und müssen alle diesen zuerkannte Eigenschaften zeigen. Vor allem müssen daher zwischen Toxinen und Antitoxinen die Beziehungen der direkten chemischen gegenseitigen Bindung nachweisbar sein. Auch hierfür hat Ehrlich[30]) selbst wieder die grundlegenden Experimente geliefert, indem er zunächst die direkte Wirkung zwischen Toxin und Antitoxin am Beispiele des Ricins und Antiricins durch seine bekannten Reagenzglasversuche an sicher abgetöteten roten Blutkörperchen, also unter Bedingungen, bei denen keinerlei vitaler Vorgang mehr im Spiele sein konnte, zeigte. Aber auch die weitere Forderung, daß es sich bei dieser gegenseitigen direkten Einwirkung zwischen Toxin und Antitoxin um eine richtige Bindung und nicht etwa vielleicht, wie man eine zeitlang annahm, um eine Zerstörung des Toxins durch das Antitoxin handle, konnte bald nachgewiesen werden. Denn durch die Experimente von Martin und Cherry am Schlangengift- und Diphtherie-Antitoxin, von mir selbst am Pyocyaneus-Antitoxin, Morgenroths am Diphtherieantitoxin u. a. m. konnte gezeigt werden, daß man aus einer neutralen Mischung von Toxin und Antitoxin durch geeignete Versuchsanordnung das Toxin wieder zu gewinnen imstande ist, daß es sich also um eine dissoziierbare Vereinigung der beiden Moleküle handelt. Es konnte aber weiterhin nachgewiesen werden, daß diese Bindung der beiden Moleküle durchaus den allgemeinen chemischen Gesetzen entspricht, daß sie in der Wärme schneller erfolgt als in der Kälte, daß konzentrierte Lösungen

[30]) Fortschr. d. Medizin, **XV**, 41, **1897** [*61*].

sich intensiver binden als verdünnte, sowie daß mit der Zeit eine Verfestigung der Bindung eintritt. Genau das gleiche Verhalten, wie es hier soeben vom Toxin zum Antitoxin geschildert worden ist, d. h. die direkte Bindung, die anfangs locker, sich rasch bis zur Untrennbarkeit verfestigt, konnte von Ehrlich und Madsen[31]) durch ihre Reagenzglasversuche für Tetanolysin und Blutkörperchen, also Gift und Zellrezeptor, nachgewiesen werden, sodaß nach dem mathematischen Satz — zwei Größen einer dritten gleich, einander gleich — die Identität zwischen Zellrezeptor und Antitoxin beinahe mathematisch bewiesen ist.

Wir haben uns bei der Schilderung der Seitenkettentheorie und ihrer experimentellen Beweise naturgemäß nur auf die fundamentalsten Tatsachen und Versuche beschränkt und haben die zahlreichen, oft unter Aufwand eines ungemein großen Scharfsinnes aufgestellten Spezialexperimentalreihen, welche man als Stütze der Seitenkettentheorie hier eigentlich noch nennen müßte, nicht aufgeführt. Es ist ja hier nicht der Platz, um, wie in einem Lehr- und Handbuch auch die Details und gleichsam die Ziselierung anzuführen, da sonst der Artikel „Seitenkettentheorie" allein zu einer großen Monographie werden müßte. Ich möchte auch nicht die vielen Verehrer Ehrlichs, welche dieses Werk lesen und nicht Immunitätsspezialisten sind, verwirren, wenn ich mich zu sehr in Einzelheiten, deren Verständnis doch große Spezialkenntnisse auf diesem Gebiet voraussetzt, verliere. Aus diesen Gründen sind daher die gesamten Experimente über die sessilen Rezeptoren und die Zunahme der Organaffinität durch dieselben außer acht gelassen und seien nur für den Spezialisten als experimentelle Stütze der Theorie erwähnt (vgl. l. c. [2—9]).

Auch der Ausbau der Seitenkettentheorie seitens Ehrlichs auf die Chemotherapie, also die geistvolle Analyse der verschiedenen Zellrezeptorengruppierungen gegenüber chemischen Mitteln, die Chemorezeptoren bei Trypanosomen, Spirochäten usw. sind hier nicht einbezogen, da dieser Teil nur eine weitere Nutzanwendung der ursprünglichen klassischen Seitenkettentheorie auf die Chemotherapie bedeutet und daher bei dem dieses Gebiet betreffenden Kapitel seine Erledigung finden wird. Aber auch dieser Punkt sei wenigstens erwähnt, um zu zeigen, welch' gewaltigen Einfluß diese Theorie auf die gesamte moderne experimentell-therapeutische und biologische Forschung ausübt. Denn auch für die Chemotherapie waren und sind die Lehren der Seitenkettentheorie die Pfadsucher und Pfadpfinder (vgl. hierzu [32])[33])[34]), l. c. [9]).

[31]) Zeitschr. f. Hyg., **XXXII**, 239, **1899** [*415*].
[32]) Berl. klin. Wochenschr., H. 9/12, **1907** [*93*].
[33]) Ber. d. deutsch. Chem. Ges., **XLII**, 17, **1909** [*108*].
[34]) Münch. med. Wochenschr., H. 5, **1909** [*109*].

Daß eine derartig kühne Tat, wie es die Aufstellung der Seitenkettentheorie war, auch zahlreiche Gegner auf den Plan rief, ist selbstverständlich. Wer von den älteren Immunitätsforschern erinnert sich nicht noch der wissenschaftlichen Kämpfe zwischen Ehrlich und Gruber auf diesem Gebiete! Aber wir glauben den Gegnern der Seitenkettentheorie, unter denen sich solch' ausgezeichnete und überall anerkannte Forscher befinden, wie der schon erwähnte Gruber, Bail, Bang und Forßman, Bordet und andere mehr, keine größere wissenschaftliche Anerkennung zuerteilen zu können, als wenn wir sagen, daß auch ihre hervorragenden Arbeiten, in der Absicht als Gegenargumente gegen die Seitenkettentheorie unternommen, bei näherer Analyse sich fast stets als mit ihr übereinstimmend erwiesen und so in jeder Hinsicht zur wertvollen Bereicherung der Wissenschaft beitrugen (vgl. hierzu die Arbeiten Ehrlichs,[35–39]). So haben sich die Aggressine Bails, diese wichtige neue Methode der Immunisierung, als Bakteriensubstanzen, d. h. als Antigene und damit als mit den Gesetzen der Seitenkettentheorie übereinstimmend erwiesen. Auch die Lipoidversuche Bangs und Forßmans bieten heute der Erklärung seitens der Theorie keine Schwierigkeit mehr, seitdem wir wissen, daß es gegen Lipoide genau so Antikörper gibt wie gegen Eiweißsubstanzen und Lipoide ein integrierender Bestandteil der lebenden Zelle, insbesondere der roten Blutkörperchen sind. Es ist daher nicht wunderbar, daß ein Serum, welches die Lipoide der roten Blutkörperchen angreift, diese letzteren zum Zerfall, d. h. zur Hämolysierung bringt. Die meisten Divergenzen in den Anschauungen über die Richtigkeit der Seitenkettentheorie sind dadurch entstanden, daß man die Theorie nicht weit genug auffaßte, daß man glaubte, ihre Lehren gelten nur für Eiweißsubstanzen, nicht aber für Fette oder selbst Kohlehydrate, d. h. für jedes bindungsfähige Molekül, ganz gleich, welche chemische Zusammensetzung es besitzt.

Auch darin ist man zu weit gegangen, wenn man glaubte, man müsse nun in jedem Falle eine Übereinstimmung eines Versuches in vitro mit den Ergebnissen in vivo feststellen können. Das gilt besonders für diejenigen Versuche, welche es sich zur Aufgabe stellten, zu prüfen, ob die bindende Kraft eines Antigens gegenüber seinem Antikörper im Reagenzglas vollständig übereinstimme mit der immunitäts-

[35]) Berl. klin. Wochenschr., H. 1, S. 18, **1902** und Münch. med. Wochenschr., H. 52, S. 2123, **1901** [*74*].

[36]) Münch. med. Wochenschr., H. 33/34, **1903** [*81*].

[37]) Ebenda, H. 52, **1903** [*82*].

[38]) Ebenda, H. 49/50, **1909** [*209*].

[39]) Ebenda, H. 24, **1910** [*210*].

auslösenden Kraft dieses Antigens in vivo, d. h. also nach der Seitenkettentheorie mit der Bindungsaffinität zu den lebenden Rezeptoren im Organismus. Das kann, wie es Versuche von mir selbst und von anderen bewiesen haben, wie die nähere Untersuchung von sogenannten serumfesten Stämmen ergibt, sehr häufig der Fall sein. Aber man darf nie vergessen, daß die Bedingungen für die Bindung eines Antigens im lebenden Organismus infolge der in vielen Organen gleichzeitig und in großer Menge oft vorhandenen Rezeptoren durch Massenwirkung viel günstigere und intensivere sind als unter den Verhältnissen im Reagenzglas. Hier wird man nur unter besonders günstig gelagerten Umständen eine völlige Übereinstimmung zwischen Organismus und Reagenzglas erwarten dürfen, und deshalb darf man meiner Ansicht nach auf diesem Gebiete ein positives Experiment wohl als Stütze der Seitenkettentheorie, niemals aber eine Differenz im Experiment als einen Beweis gegen die Seitenkettentheorie verwenden. Aus diesem Gesichtspunkte heraus sind auch die Experimente zu beurteilen, welche daraus, daß ein neutralisiertes Toxin-Antitoxingemisch unter Umständen noch immunisiert, einen Beweis gegen die Lehre der Seitenkettentheorie von der ausschlaggebenden Wichtigkeit der haptophoren Gruppe herleiten wollen. Denn nach der Seitenkettentheorie muß ja in einem solchen Gemisch die haptophore Gruppe verstopft und also zu ihrer Bindung an den lebenden Rezeptor nicht mehr befähigt sein, sie dürfte also eine Immunität nicht mehr auslösen können. Abgesehen davon, daß durch die Experimente von Rehns[40]), v. Dungern[41]), H. Sachs[42]), M. Neisser und Lubowski[43]) es tatsächlich bewiesen ist, daß ein völlig neutrales Gemisch von Antigen und Antikörper, in dem die haptophoren Gruppen sicher verstopft sind, nicht mehr immunisiert, darf man den eben auseinandergesetzten Gesichtspunkt nicht aus dem Auge verlieren, daß im Organismus die Menge und Qualität der Rezeptoren derartig sein kann, daß sie präavide sind, und daher ein solches Gemisch wieder dissoziieren. Ganz besonders kann aber nach Ehrlich (l. c. [36], [42]) die Avidität der Gewebsrezeptoren durch den Vergiftungs-, resp. Immunisierungsprozeß als solchen eine Steigerung erfahren. Durch dieses Moment, zumal unter Berücksichtigung des Umstandes, daß die Immunisierung ein Stadium der Vermehrung „sessiler Rezeptoren“ [44]) bedingen oder zurücklassen kann,

[40]) C. r. de la Soc. de Biol., **LIII**, 141, **1901** [*511*]; vgl. auch: ebenda, **LII**, 1058, **1900** [*510*].

[41]) Münch. med. Wochenschr., H. 20, **1900** [*339*].

[42]) Centralbl. f. Bakt., **XXX**, 491, **1901** [*535*].

[43]) Ebenda, **XXX**, 483, **1901** [*481*].

[44]) Vgl. Ehrlich und Morgenroth, Berl. klin. Woch., H. 21/22, **1901** [*197*].

finden auch paradoxe Phänomene, wie sie gleichsinnig von Kretz gedeutet wurden, sowie gewisse Formen der Überempfindlichkeit in Übereinstimmung mit der Seitenkettentheorie befriedigende Erklärung.

Ich will gewiß nicht leugnen, daß ich vielleicht, was die Seitenkettentheorie angeht, ein Richter bin, der mit seinem Gefühle auf seiten des der Beurteilung unterliegenden Gegenstandes steht, wie es eben bei jedem der Fall ist, der gut beraten war und dem Ratgeber deshalb Dank schuldet. Für mich war die Seitenkettentheorie und damit Paul Ehrlich wissenschaftlicher Leitstern seit anderthalb Dezennien. Sie hat mich zur Auffindung der Serodiagnostik der Syphilis, zur Auffindung der lokalen Produktion der spezifischen syphilitischen Reaktionsprodukte in der Lumbalflüssigkeit bei Paralyse, zu den Untersuchungen über das Wesen der Tuberkulinreaktion, sowie zur Konstituierung des Selen-Eosins nach Muster von haptophorer und zerstörender Gruppe zwecks Chemotherapie der Mäusetumoren geführt. Ich führe das an, nicht nur allein, um hier dem Schöpfer dieser Theorie den Tribut meines Dankes zu zollen, sondern vor allem, um den ungeheuren heuristischen Wert dieser Theorie zu zeigen. Und betrachten wir die anderen großen Gebiete der Immunitätslehre, welche seit Aufstellen der Seitenkettentheorie hinzugewachsen sind, das Gebiet der Anaphylaxie, dasjenige der Allergie, so werden sie alle beherrscht von der Tatsache der spezifischen chemischen Bindung zwischen Antigen und Reaktionsprodukt des lebenden Organismus, also den Lehren der Seitenkettentheorie. Und so kann man als Schlußsatz über diese Theorie nur das Schönste aussprechen, was man einem zum Zwecke der Förderung der Wissenschaft aufgerichtetem Gedankengebäude nachsagen kann. Alle, die sich mit ihr beschäftigten, sowohl die, welche als Anhänger derselben sie zu stützen, wie diejenigen, welche als Gegner derselben sie zu widerlegen suchten, haben Nutzen davon gehabt, sie haben die Wissenschaft bereichert, sie haben experimentelle und praktische Erfolge gezeitigt, sie sind alle dieser Theorie, die heute noch ebenso lebenskräftig dasteht wie bei ihrer Verkündigung, und ihrem Schöpfer Paul Ehrlich Dank schuldig.

3.

# Methodik und quantitative Prinzipien bei der Behandlung der Immunitätsprobleme.

Von

**Th. Madsen,**

Kopenhagen.

Die zwei kleinen Aufsätze über Ricin[1]) und Abrin[2]), mit denen Ehrlich im Jahre 1891 die Reihe seiner bahnbrechenden Abhandlungen über Immunitätsfragen eröffnete, sind durch die höchst anspruchslose Weise bewundernswürdig, in der ihre reiche Fülle von neuen Tatsachen und Ideen dargestellt ist. Es ist, als ob der unermüdlich arbeitende Meister zu dieser Zeit der Forschungsarbeit im Laboratorium sein ganzes Interesse gewidmet hat, während er sich wenig darum kümmerte, daß das hier hervorgebrachte Neue mit verdientem Nachdruck veröffentlicht wurde.

Und heute wissen wir, daß diese kurzgefaßten Aufsätze die Immunitätslehre in neue Bahnen leitete, und daß die darin enthaltenen Gesichtspunkte für einen großen Teil der in der folgenden Zeit erschienenen Arbeiten über Immunitätsprobleme grundlegend wurden.

Schon ihr Thema enthielt eine mächtige Erweiterung der Antitoxinlehre, indem diese von den zwei Bakterientoxinen Diphtherie- und Tetanusgift auf so heterogene Körper, wie Ricin und Abrin, übertragen wurde, welche allgemein als giftige Pflanzeneiweißkörper aufgefaßt wurden.

Auch auf einem anderen Gebiete brachten diese beiden Arbeiten neue Gesichtspunkte an den Tag, indem Ehrlich andere Immunisierungswege als die gewöhnlichen einschlug. Während man bei

[1]) Deutsche med. Wochenschr., H. 32; **1891** [*49*].

[2]) Ebenda, H. 44; **1891** [*50*].

der Immunisierung sonst so gut wie immer das Antigen durch subkutane, intraperitoneale oder intravenöse Injektion in den Organismus einführte, brachte Ehrlich hier zum ersten Male die Immunisierung per os[3]) zur Verwendung und zeigte, daß eine hochgradige Giftfestigkeit gegenüber subkutanen Injektionen nebst Bildung von beträchtlichen Antikörpermengen sich auf diese Weise erzielen ließ. Ehrlich zeigt ferner hier, daß auch eine Immunisierung durch die Conjunctiva möglich ist, und es finden sich schließlich Ausgangspunkte für das Studium vieler fundamentaler Tatsachen bezüglich lokaler und genereller Immunität. Ehrlich sieht auch sofort die große Bedeutung, welche diese Immunitätsversuche über Abrin und Ricin möglicherweise für die ophthalmologische Praxis erhalten können.

Unmittelbar wurden aber diese Arbeiten dadurch am meisten von Bedeutung, daß sie als der erste Versuch einer methodischen, in systematischer Weise durchgeführten Steigerung der Immunität oder Giftfestigkeit aufzufassen sind, welch letzterer Ausdruck für die erzielte Resistenz von Ehrlich verwendet wurde, und sie waren auch dadurch bedeutungsvolle Erscheinungen, daß Ehrlich als der Erste sich hier zur Aufgabe machte, in exakter Weise zahlenmäßig den Gang der Immunisierung zu verfolgen.

Ehrlich machte dies in der Weise, daß er an einer größeren Reihe von Mäusen die Ricinfestigkeit dieser in jedem Stadium der Immunisierung maß. Erst wurde die tödliche Minimaldosis bei Ricininjektionen an Mäusen bestimmt, und es wurde danach untersucht, wie viel solche tödliche Dosen die immunisierten Mäuse ertragen konnten. Falls das Tier gerade eine solche ertrug, wurde der Immunitätsgrad mit 1 bezeichnet, wurden 4 ertragen, hatte es eine Immunität = 4 usw. Hierdurch war somit die fundamentalwichtige Grundlage für eine quantitative Behandlung der Immunitätsprobleme geschaffen und die Bahn für eine Fülle von neuen Beobachtungen gewiesen.

Durch dieses Verfahren gelang es sofort, die Gesetzmäßigkeiten im Gange der Immunisierung nachzuweisen. Ehrlich konnte zeigen, daß das Werden der Immunität nicht etwa in gleichmäßiger Weise entsprechend den früheren Vorstellungen erfolgt, fand vielmehr, daß, während in den ersten 4 Tagen nichts von erhöhter Widerstandsfähigkeit vorhanden ist, plötzlich am 6. Tage eine ausgesprochene Immunität einsetzt, die schon die verhältnismäßig beträchtliche Höhe des 13fachen Grades erreichen kann. Von da an entwickelt sich die Immunität unter dem Einfluß systematisch gesteigerter Dosen in progressiver Weise. Eine

[3]) Vgl. hierzu: Wiener klin. Wochenschr., H. 18; **1908** [*102*].

graphische Darstellung dieser Ergebnisse würde eine Kurve mit steil aufstrebendem Schenkel ergeben.

Ehrlich führte hier das Prinzip der Immunitätssteigerung durch immer größer werdende Injektionen toxischer Substanzen ein, welches von einer so entscheidenden Bedeutung für die künftigen Zeiten werden sollte. In dieser Arbeit findet sich tatsächlich die erste beobachtete Immunitätskurve, und dieser für die Immunitätslehre so hochbedeutende Fund wurde in einer zweiten Arbeit vertieft, welche in vielen Punkten von der allergrößten Wichtigkeit für die Immunitätslehre geworden ist, nämlich in einer in Gemeinschaft mit Brieger veröffentlichten Abhandlung [Beiträge zur Kenntnis der Milch immunisierter Tiere][4]), welche ausgedehnte Untersuchungen über den Verlauf der Immunisierung enthält.

Bei der Untersuchung über die Antitoxinmengen in der Milch tetanusimmunisierter Ziegen wurden die Verfasser auf den wellenförmigen Verlauf des Immunisierungsvorganges aufmerksam, und sie teilen die berühmte Kurve mit, in welcher zum ersten Male die verschiedenen Phasen der Antitoxinschwankungen nachgewiesen und näher erwähnt worden sind. Das erste Wellental, das sich unmittelbar an die Injektion anschließt, die erste „negative Phase", war in diesem Falle sehr stark ausgesprochen, so daß man mit Sicherheit feststellen konnte, daß erst ein Fallen der Antitoxinmenge sich einstellt, danach, als Ausdruck einer starken Produktion, ein Steigen (die positive Phase), welches wieder von einem Fallen (die zweite negative Phase) abgelöst wird, das schließlich in eine Art von Gleichgewichtszustand (die letzte Phase) abklingt. Die Tragweite dieses Fundes ist für die theoretische und praktische Immunitätslehre außerordentlich groß.

Dieser Grundtypus des Antitoxinverlaufes ist tatsächlich einer der festesten Punkte der Antitoxinlehre und gilt in den Hauptzügen für alle Antikörper. In theoretischer Beziehung ist das Feststellen dieser Kurve von so großer Bedeutung, weil sie es uns ermöglicht, in die verwickelten Verhältnisse der aktiven Immunisierung einzudringen, in praktischer Beziehung, weil wir erst durch ein genaueres Studium dieser imstande sind, die zweckmäßigsten Methoden zur Produktion von größeren Antitoxinmengen festzustellen und den günstigsten Zeitpunkt für den Aderlaß zu bestimmen. Auf dieser Grundlage stellen die Verfasser die Prinzipien der verschiedenen Immunisierungsmethoden auf, teils die Formen der progressiven Immunisierung mit langsam wachsen-

[4]) Zeitschr. f. Hygiene, **XIII**, 336; **1893** [*172*]; vgl. auch Deutsche med. Wochenschr., H. 18; **1892** [*171*].

den Dosen, die nur geringe Reaktionen hervorrufen, und wodurch man ein mehr allmähliches, kontinuierliches Ansteigen der Immunitätshöhe erreicht, teils eine zweite Methode, die Immunisierung durch einzelne Schläge, welche darauf beruht, daß man in größeren Intervallen große Dosen verabfolgt, die so bemessen sein müssen, daß sie eine starke Reaktion des gesamten Organismus veranlassen. Die Verfasser leisten ferner wertvolle Beiträge zum Verständnis von der Bedeutung der verschiedenen Phasen für Theorie und Praxis, und es ist wohl bekannt, eine wie große Rolle insbesondere die Berücksichtigung der ersten negativen Phase in der Diskussion über die zweckmäßigste praktische Ausführung der Vaccination gegen Typhus, Cholera usw. und in der Vaccinetherapie überhaupt gespielt hat, und daß bis jetzt noch keine Einigkeit bezüglich dieser Frage erzielt worden ist.

Das Studium der positiven Phasen führt uns tief in die Fragen über die Bildungsweisen und Bildungsstätten der Antikörper ein; der Nachweis von der ausgesprochenen Acme, welche in der Regel so plötzlich ins Fallen übergeht, ist von der allergrößten Bedeutung für die Praxis der Serumproduktion, indem ein Aderlaß wenige Tage vor oder nach dieser Acme mit einem außerordentlichen ökonomischen Verlust verknüpft werden kann. Der Nachweis der Tatsache, daß die zweite negative Phase völlig denselben Gesetzen wie das Fallen der Antitoxinmenge bei der passiven Immunisierung folgt, hat wesentlich zur Klärung unserer Vorstellungen vom Wesen der aktiven Immunisierung beigetragen. Noch ist die Bedeutung dieser klassischen Kurve nicht genügend geschätzt worden, und viele Untersuchungen über Antikörperbildung haben dadurch außerordentlich an Wert verloren, daß die Untersucher sich mit einer einzelnen Bestimmung des Antikörperwertes begnügt haben, ohne zu wissen, an welchem Punkte der Antikörperkurve diese Bestimmung lag.

In den Arbeiten über Ricin und Abrin hatte Ehrlich wesentlich die erzielte Giftfestigkeit zahlenmäßig angegeben und sich mit dem Konstatieren des gleichzeitigen Steigens der Antikörpermenge begnügt. Diese Messung der Schwankungen in der Giftfestigkeit ist übrigens von Bedeutung, weil die weit überwiegende Mehrzahl der späteren Untersucher die Menge des Antitoxins, und nicht die Toxinresistenz des Organismus, gemessen haben, indem sie oft von der Voraussetzung ausgegangen sind, daß bei der aktiven Immunität der Antitoxininhalt des Blutes der alleinige Ausdruck für die Immunität sei.

Indessen wurde die Forderung genauerer Maßmethoden für die Antikörper selbst allmählich stärker, weshalb Ehrlich und seine Mitarbeiter die folgenden Jahre unermüdlich an dieser Sache weiter arbeiteten. Es

wurde Ehrlich bezüglich Tetanus und Diphtherie schnell klar, daß virulente Bakterien nicht den hohen Forderungen entsprachen, welche er für seine Meßmethoden stellte, und er ging deshalb zur ausschließlichen Verwendung von Toxinen über.

Um die beste Maßmethode zu erzielen, prüfte Ehrlich die verschiedenen möglichen Kombinationen durch, und zwar die Mischung von Toxin und Antitoxin vor der Injektion und die getrennte Injektion des Giftes vor, gleichzeitig mit oder nach der Applikation des Antitoxins, und er blieb zuletzt bei der Mischungsmethode, welche jetzt unsere Hauptmethode bei der Antitoxinmessung ist.

Alle diese quantitativen Bestimmungen beruhen auf der Voraussetzung, daß durch das Zusammenwirken von Antikörper und Gift ein für den Organismus ungiftiges Produkt resultiert, und daß, wie bei Tetanus von Behring und Ehrlich angegeben worden ist, dabei zwischen Gift und dem zur Entgiftung notwendigen Antikörper Beziehungen der einfachen Proportionalität bestehen. Anfangs folgte Ehrlich hauptsächlich dem Wege, daß man den Tieren zunächst eine bestimmte Menge Antikörper einverleibt und dann nach erfolgter Resorption wechselnde Mengen Gift zuführt und bestimmt, gegen wie große Mengen dieses die verwendeten Antikörper schützt.

Später ging Ehrlich[5]) unter Mitwirkung von Kossel und Wassermann[6])[7]) zur Benutzung der von den ersten Versuchen Behrings und Kitasatos bekannten Tatsache über, daß beide Substanzen, auch im Reagenzglase gemischt, einander neutralisieren; und auf dieser Basis wurde die erste der berühmten Maßmethoden für Diphtherieantitoxin ausgearbeitet, welche von so hervorragender Bedeutung geworden ist. Die Verfasser zeigten, daß auch im Reagenzglase die Gesetze der Proportionalität bei Verwendung der mindestens 5—10fachen tödlichen Dosis volle Gültigkeit haben. Auf die Einzelheiten dieser Maßmethoden wird hier nicht näher eingegangen, weil sie an anderer Stelle geschildert werden.

Gegenwärtig, wo die Ehrlichsche Maßmethode[8])[9]) gemeinschaftlicher Besitz aller zivilisierten Nationen ist, und die Ehrlichsche Immunitätseinheit für die Antitoxinmessung eine ähnliche Rolle spielt, wie das Normalmeter für die Längenbestimmung, ist man schon geneigt, zu

---

[5]) Hyg. Rundschau, H. 24; **1894** [*58*].
[6]) Zeitschr. f. Hygiene, **XVIII**, 239; **1894** [*212*].
[7]) Deutsche med. Wochenschr., H. 16; **1894** [*184, 185*].
[8]) Klin. Jahrbuch, **VI**, 299; **1897** [*60*].
[9]) Deutsche med. Wochenschr., H. 38; **1898** [*62*].

vergessen, ein wie durchgreifender Fortschritt das Erscheinen dieser Methoden war. Für viele Bakteriologen, die damals daran gewöhnt waren, mit der großen Unsicherheit der Virulenzbestimmungen zu rechnen, war der Gedanke weit entfernt, daß man imstande sein könne, die tödliche Minimaldosis für Tiere von konstanter Größe genau zu bestimmen, die Bestimmung, welche die Grundlage dieser Messungen ist. Es war damals noch erstaunlicher, daß es möglich war, mit derselben Genauigkeit, d. h. mit einem relativ merkwürdig kleinen Fehler, Mischungen zweier an und für sich chemisch völlig undefinierter Körper wie Toxin und Antitoxin zu messen. Noch am Schlusse der neunziger Jahre konnte man Skeptizismus gegenüber diesen quantitativen Messungen von Toxin und Antitoxin begegnen.

Aus diesen Ehrlichschen Arbeiten stammen auch sowohl eine Reihe bedeutsamer Aufschlüsse über das Verhalten des Giftes bei Abschwächung, als auch Versuche über Konservierung desselben durch verschiedene Methoden, wie Kälte, Gefrierenlassen, Luftabsperrung, Zusatz von reduzierenden Stoffen, Überschichtung durch Toluol u. dgl. Ein Hinweis möge genügen auf Ehrlichs bereits in Gemeinschaft mit Brieger (l. c. [4]) mitgeteilte Versuche über die Konzentrierung der Antikörper, besonders aus der Milch, durch Fällung mit Ammonsulfat oder Magnesiumsulfat.

Es ist auch von großer Bedeutung, daß Ehrlich den Lokaleffekt, das diphtherische Ödem, in seine quantitativen Bestimmungen einzog und zeigte, daß hierdurch eine sehr feine Prüfung der Giftwirkung sich erreichen ließ. Spätere Zeiten haben uns gelehrt, die Bedeutung der lokalen Giftwirkung als quantitativen Wertmesser zu schätzen.

Reagensglasversuche. Die quantitative Bearbeitung der Immunitätsprobleme bekam einen mächtigen Impuls und wurde in ganz neue Bahnen geleitet, als Ehrlich den Reagensglasversuch in das Studium über Toxin und Antitoxin einführte. Der Anfang stammt aus seiner im hohen Grade bedeutungsvollen Arbeit „Zur Kenntnis der Antitoxinwirkung“,[10]) durch welche der bisher unentschiedene Streit darüber, ob Toxin und Antitoxin einander direkt beeinflussen, oder ob dies indirekt durch einen Einfluß auf die Zellen des Organismus geschieht, endlich entschieden wurde. Es gelang Ehrlich zu zeigen, daß das Ricin durch das Antiricin unschädlich gemacht wird, mit sicherem Ausschluß jeder etwa anzunehmenden Zelltätigkeit.

Ehrlich ging von der Tatsache aus, daß Ricin im extravaskulären Blute ebenso wie im lebenden Tiere eine eigentümliche Gerinnung

[10]) Fortschritte der Medizin, **XV**, 41, **1897** [*61*].

hervorruft, indem es die roten Blutkörperchen zusammenballt und niederschlägt. Durch eine Reihe quantitativer Versuche zeigte nun Ehrlich, daß Antiricin die spezifische Wirkung des Ricins auf das Blut im Reagenzglase aufhebt, und es wurde bei Injektionen an Mäusen gefunden, daß Mischungen, die im Reagenzglase eben unschädlich waren, auch keine Wirkung gegenüber Tieren ausübten. Der Tierversuch bestätigte also die aus dem Reagenzglasversuche zu ziehenden Schlüsse.

Kurz nachher machte Ehrlich eine neue Beobachtung von der allergrößten Bedeutung, indem er fand, daß im Tetanusgifte außer dem lange bekannten krampferregenden Körper Tetanospasmin sich auch ein anderer Körper, das Tetanolysin[11]), fand, welches die Fähigkeit besaß, die Erythrocyten einer großen Reihe von Tierarten zu lösen. Er zeigte ferner, daß Tetanusantitoxin einen Antikörper gegen das Tetanolysin enthielt, und daß auch normales Pferdeserum antilytische Eigenschaften besaß.

Daß es sich hier um verschiedene Gifte handelte, ging daraus hervor, daß die tetanische und die hämolytische Giftwirkung in verschiedenen Präparaten keineswegs in demselben gegenseitigen Verhältnis vorhanden sind, es finden sich somit Gifte, die eine stark tetanisierende und eine geringe hämolytische Wirkung haben, und solche, die sich umgekehrt verhalten. Ferner war die Haltbarkeit der hämolytischen Funktion eine weit geringere, als die der tetanisierenden; nur die hämolytische Funktion wurde von den roten Blutkörperchen gebunden, und die Untersuchung von verschiedenen Tetanusseren ergab, daß ihre neutralisierende Wirkung dem Tetanolysin und dem Tetanospasmin gegenüber nicht parallel geht.

Wie bekannt, sind hämolytische Eigenschaften später in einer großen Anzahl von Bakterienkulturen nebst spezifischen Gegengiften gefunden worden, zu dem Zeitpunkte aber, als die erwähnte Beobachtung gemacht wurde, wirkte sie in hohem Grade imponierend, und es fanden sich damals Bakteriologen, auf welche sie so befremdend wirkte, daß sie sich lange nicht vorstellen konnten, daß die hämolytische Wirkung einem toxinähnlichen Körper zuzuschreiben war, sondern meinten, es wäre eine Alkaliwirkung oder dergleichen.

Das Bedeutungsvollste bei dieser Beobachtung war, daß die Toxin-Antitoxinversuche dadurch in eine neue Phase eintraten. Man wurde erstens von den Tierversuchen unabhängig, durch welche die Versuche auf mancherlei Weise gehemmt worden waren. Ferner war es in einer weit größeren Ausdehnung als früher möglich, die Versuchsbedingungen zu variieren und z. B. den Einfluß der Temperatur auf die Beziehnngen

[11]) Berliner klin. Wochenschr., H. 12, S. 273; **1898** [*63*].

zwischen Antigen und Antikörper zu untersuchen, auf das Verhalten des Giftes gegenüber dem Substrat (den roten Blutkörperchen), auf die Bindung usw.

Dies trat mit besonderer Deutlichkeit in einigen Untersuchungen hervor, welche im Laboratorium Ehrlichs über Tetanolysin von Madsen[12])[13]) vorgenommen wurden; es stellte sich hierbei heraus, daß das Tetanolysin in vielen Beziehungen eine weitgehende Übereinstimmung mit dem Diphtheriegifte zeigte, so daß man innerhalb ziemlich weiter Grenzen imstande war, Schlüsse von dem einen auf das andere zu ziehen. In der zweiten dieser Arbeiten trat der Vorteil des Reagenzglasversuches besonders deutlich hervor, indem es möglich war, in quantitativer Weise zu messen, wie viel Gift zu verschiedenen Zeiten in die Blutkörperchen aufgenommen wurde, und zu zeigen, daß das Antitoxin imstande war, das in dieser Weise gebundene Lysin völlig zu neutralisieren und dadurch die Lösung der Blutkörperchen zu verhindern. Daß es tunlich ist, durch Antitoxin das schon an die roten Blutkörperchen gebundene Tetanolysin diesen zu entreißen und unschädlich zu machen, dies war somit nicht allein möglich, bevor die toxische Wirkung eingetreten ist, sondern man kann in jeder Phase der Lösung das Weiterschreiten des Prozesses verhindern, mit anderen Worten, solange das tetanolysinvergiftete rote Blutkörperchen nicht gelöst worden ist, ist eine vollständige Heilung durch Antitoxin noch möglich.

Ehrlich hat den Weg für die Exaktheit der Immunitätslehre gebahnt; ihm verdanken wir die quantitative Auffassung des Immunitätsbegriffes und das Prinzip der Immunitätssteigerung, wir verdanken ihm unsere Kenntnis bezüglich des Immunitätsverlaufes, unsere vorzügliche Maßmethode für das Diphtherieantitoxin und die glänzende Organisation der Praxis der Serumprüfung; wir verdanken ihm die bedeutsame Einführung der Reagenzglastechnik in die Toxin-Antitoxinlehre.

[12]) Zeitschr. f. Hygiene, **XXXII**, 214; **1899** [*414*].
[13]) Ebenda, **XXXII**, 239; **1899** [*415*].

4.

# Zur experimentellen Technik.

Von

**L. H. Marks,**

Frankfurt a. M.

Wenn man die außerordentliche Exaktheit bewundert, mit der Paul Ehrlich in die Probleme der Biologie einzudringen versuchte, so überrascht häufig das einfache technische Rüstzeug, mit welchem dieser Forscher die schwierigsten Fragestellungen in Angriff zu nehmen und zu lösen versteht. Allerdings entspricht diese Forderung nach einer einfachen und übersichtlichen Technik und Methodik dem Bestreben nach großzügiger Versuchsausführung auf breiter experimenteller Basis, wie es für die Forschungen Ehrlichs stets maßgebend war. Eine ganz besondere Rolle aber mußte der Wunsch, rasch und doch mit aller Prägnanz vorwärts zu gelangen, bei den Immunitätsstudien spielen. Denn gerade hier kam es Ehrlich darauf an, nicht nur qualitative Werte zu schaffen, sondern den quantitativen Verlauf der Gesetzmäßigkeiten als Grundlage des Verständnisses der Erscheinungen zu bestimmen. So ist es vielleicht für die Arbeitsweise durchaus charakteristisch, daß man in den Laboratorien Ehrlichs alle Eingriffe, welche das Tierexperiment erfordert, unter möglichster Vermeidung komplizierender Technizismen vornehmen sieht, so daß trotz aller erdenklichen Sicherheit und Schonung der Versuchstiere der Zeitverbrauch auf ein Mindestmaß sinkt. Um nur ein Beispiel anzuführen, sei an die außerordentliche Exaktheit erinnert, mit der Ehrlich die allgemein gültigen Wege zur Wertbemessung des Diphtherieserums gewiesen hat, und in wie einfacher Weise die von ihm hierzu konstruierte Apparatur und die von ihm ersonnene Methodik allen erforderlichen Kautelen entspricht.

Dabei darf darauf hingewiesen werden, wie Ehrlich bei der Ausführung seiner umfangreichen Serien von Tierexperimenten auch stets den Lebensgewohnheiten und Ernährungsverhältnissen der Versuchstiere besondere Aufmerksamkeit schenkte, so daß ihm die geringsten Abweichungen von der Norm nicht entgingen. So stellen gerade die

ersten Arbeiten über Ricin und Abrin, mit denen Ehrlich[1] [2]) die Ära seiner Immunitätsstudien begann, bereits eine Fundgrube vielseitiger Einzelbeobachtungen dar. Neben der Erkenntnis der schwankenden Empfindlichkeit der von ihm benutzten Versuchstiere, den weißen Mäusen, „abhängig von Besonderheiten der Rasse, des Alters, der Ernährung und anderen individuellen Verschiedenheiten", gegenüber dem Ricin, gelangte Ehrlich auf Grund der Tatsache, daß bei subkutaner Injektion des Ricins ausgedehnte Intoxikationen und Narbenbildungen entstehen, welche die Mäuse zu weiteren Versuchen untauglich machen, zu der Immunisierung per os. Und wie Ehrlich hierbei einfach und doch quantitativ zahlenmäßig zum Ziele zu gelangen wußte, das zeigt das als „Ehrlichsche Kakesmethode" bekannte, von ihm eingeführte und zu diesem Zwecke herangezogene Verfahren[3]) (l. c. [1]). Es gelingt dabei leicht durch Verwendung von Albertkakes als Grundmaterial der Ernährung abgewogene oder abgemessene Mengen der einzuführenden Substanz zu einem steifen Teig zu verrühren, der dann gerollt und in kleine Würfel geschnitten wird. Diese Methode gestattet eine „kontinuierliche, ganz gleichmäßige Zuführung toxischer Substanzen durch Wochen und Monate" und ist seither in zahlreichen Fällen sehr erfolgreich für die Darreichung oder die Immunisierung per os benutzt worden.

Für diejenigen Fälle, in denen es sich darum handelt, den Mäusen auf einmal größere Dosen von Substanzen per os einzuführen, um die tödliche, toxische oder die noch ertragbare Dosis zu bestimmen, ist gleichfalls im Institut Ehrlichs durch Marks[4]) [5]) ein ganz feiner Seidenkatheter angegeben worden, der als Magensonde dient, und dessen oberes Ende einen Ansatz zur Aufnahme des unteren Endes einer gewöhnlichen Pravazspritze trägt.

Nicht unerwähnt sei an dieser Stelle, daß auch die intravenöse Einverleibung bei Mäusen von Ehrlich und in seinen Laboratorien schon zu einer Zeit verwendet wurde, zu der man im allgemeinen an die Möglichkeit dieser Methode wohl noch nicht dachte. Von Ehrlich schon seit mehr als zwei Dezennien vielfach geübt, ist dieses Verfahren der intravenösen Injektion bei Mäusen den Mitarbeitern und zahlreichen Besuchern des Ehrlichschen Instituts seit vielen Jahren durch Tradition bekannt geworden, bis es erst in den letzten Jahren allgemeinere Verwendung auf den verschiedensten Gebieten der wissenschaftlichen Forschung fand.

[1]) Deutsche med. Wochenschr., H. 32, **1891** [*49*].
[2]) Ebenda, H. 44, **1891** [*50*].
[3]) Deutsche med. Wochenschr., H. 32, **1890** [*48*].
[4]) Arb. a. d. Inst. f. exp. Ther. in Frankfurt a. M., H. 4, S. 29, **1908** [*420*].
[5]) Journ. of exp. med. **X**, 204, **1908** [*421*].

Auch bei anderen Tierarten ist gerade die intravenöse Injektion von Ehrlich unter steter Beachtung eines möglichst raschen und die Tiere schonenden Vorgehens gern herangezogen werden. Wurde daher bei Kaninchen stets die intravenöse Einverleibung in die Randvene des Ohres bevorzugt, so gelang es Morgenroth in Ehrlichs Institut auch für Meerschweinchen eine rasche Art der intravenösen Applikation einzuführen. Nachdem nämlich Raybaud und Hawthorn, Camus, Nicolle und Ducloux die Möglichkeit bewiesen hatten, einem Meerschweinchen durch Herzpunktion Blut zu entnehmen, zeigte Morgenroth[6] [7]), daß es durch intrakardiale Injektion beim Meerschweinchen relativ leicht gelingt, intravenös zu injizieren, eine Methode, die seither zur Lösung vieler Probleme auf dem Gebiete der Immunitätsforschung erfolgreich herangezogen werden konnte.

Diese Beispiele mögen genügen, um darauf hinzuweisen, wie Ehrlich auch in technischer und methodischer Hinsicht führend ist. Gerade in der Immunitätsforschung hat das Frankfurter Institut auf vielen Gebieten die Methodik gewiesen. So sei nur an die Methodik der Hämolysinuntersuchung (vgl. Morgenroth[8])) und an die Methodik des bakteriziden Reagenzglasversuchs (vgl. M. Neißer[9])) erinnert. Erwähnt sei hierbei auch das von Ehrlich herrührende Verfahren der Konservierung labiler Serumfunktionen, insbesondere der Komplemente in gefrorenem Zustande, das durch den von Morgenroth angegebenen Apparat „Frigo" allgemeinen Eingang in die Laboratoriumspraxis gefunden hat.

Aber nicht nur in der Technik und Methodik des Tierversuchs, sondern auch in der allgemeinen Organisation des Laboratoriumbetriebes, in der Aufstellung des Arbeitsplanes und in seiner großzügigen Verwirklichung kann man bei Ehrlich die weitausschauende Initiative und die ausdauernde Energie bewundern. Charakteristisch ist dabei die schriftliche Aufzeichnung der Versuchsdisposition, welche Ehrlich mit Vorliebe benutzt, um sich eine plastische Übersicht über Gang und Möglichkeiten der experimentellen Analyse zu schaffen. So ergibt sich für alle seine Arbeitsgebiete die wohlüberlegte Versuchsanordnung, welche zu einer einfachen Ausführung unter Wahrung aller Kautelen führt. Das aber gehört zu den Vorbedingungen für die ergebnisreichen Früchte dieser Forschertätigkeit, deren spezielle Behandlung Aufgabe der einzelnen Abschnitte dieses Festbandes ist.

[6]) Berl. klin. Wochenschr., H. 20, **1904** [*454*].
[7]) Zeitschr. f. Hyg., **XLVIII**, 177, **1904** [*455*].
[8]) Gesammelte Arbeiten zur Immunitätsforschung, S. 461, **1904** [*456*].
[9]) Ebenda, S. 493, **1904** [*469*].

5.

# Rezeptorenspezifität.

Von

**E. Freiherr v. Dungern,**

Hamburg.

Schon bei pharmakologisch wirksamen Substanzen von bekannter chemischer Konstitution hat sich eine gewisse spezifische Beziehung zu bestimmten Gewebselementen gezeigt, und diese wurde von Ehrlich auf spezifische Bindungsverhältnisse zurückgeführt. Die Entdeckung der cytotoxischen Antikörper durch Pfeiffer, Bordet, v. Dungern, Landsteiner zeigte dann eine ganz ungeahnte Spezifität. Die Zahl der spezifischen Reaktionen war eine fast unbegrenzte, und so konnte gerade auf diesem Gebiet Ehrlichs Prinzip der spezifischen Bindung zu einem Leitfaden späterer Forschung werden. Ehrlich und Morgenroth haben nach ihren ersten Bindungsversuchen mit Immunhämolysinen den Begriff des Rezeptors eingeführt und definiert als diejenige bindende Gruppe des Protoplasmamoleküls, an welche eine fremde, neu eingeführte Gruppe eingreift[1]). Diese den Antikörper bindende Gruppe ruft, in den Tierkörper eingeführt, den zugehörigen Antikörper hervor. Der spezifische Rezeptor ist somit in dieser Beziehung identisch mit dem, was ich Immunisierungskörper genannt habe, und was später als Antigen bezeichnet worden ist. Der Begriff des Rezeptors ist jedoch noch weiter; er umfaßt auch den Antikörper, da nach der Seitenkettentheorie der Antikörper ursprünglich ein Rezeptor der Zelle ist. Das Wesentliche und Neue besteht in der Auffassung, daß die Spezifität sowohl bei der Antigen-Antikörperreaktion, wie bei der Antikörperauslösung durch das Antigen auf der gleichen Bindung zweier spezifisch aufeinander eingestellten Rezeptoren beruht.

Diese Auffassung fand vor allem in Beobachtungen eine Stütze, die ich in Ehrlichs Institut gemacht habe[2]). Wenn das Antigen dadurch den Antikörper auslöst, daß es sich spezifisch mit einem Rezeptor der Zelle

[1]) Berl. klin. Wochenschr., **1900**, H. 21 [*194*].

[2]) Münch. med. Wochenschr., **1900**, H. 20 [*339*].

verbindet, und wenn dieser Rezeptor dann als Antikörper sich auf die gleiche Weise mit dem Antigen verbindet, so mußte es möglich sein, die Auslösung des Antikörpers dadurch zu verhindern, daß man das Antigen vorher mit Antikörper besetzt und somit die Verbindung mit dem Rezeptor der Zelle unmöglich macht. Das ist nun in der Tat der Fall. Rinderblut, das bei Kaninchen regelmäßig hämolytischen Immunkörper hervorruft, verlor diese Eigenschaft, wenn es vorher mit inaktivem hämolytischen Immunkörper beladen war. Dieses Ergebnis wurde vielfach bestätigt, zuerst von H. Sachs[3]) und von M. Neißer und Lubowski[4]). Das Phänomen zeigte sich freilich nicht in allen Fällen mit gleicher Prägnanz, doch ließen sich die Ausnahmen immer mit dem Grundphänomen in Einklang bringen.

Bei Bakterien kann es nötig sein, einen sehr hohen Überschuß des Immunserums zu verwenden, um alle Rezeptoren abzusättigen und die Auslösung der Antikörper zu verhindern.

Es sind auch sonst mehrfach Beobachtungen gemacht worden, vor allem von Bang und Forßman, mit denen versucht wurde, dem Prinzip der Einheitlichkeit von Antigen und antikörperbindender Gruppe zu widersprechen. Doch war es immer ohne weiteres möglich, die Befunde aufzuklären und mit der Ehrlichschen Anschauung zu vereinigen (vgl. hierzu Ehrlich und Sachs[5]) [6]), sowie die aus dem Ehrlichschen Institut hervorgegangenen Arbeiten von v. Szily[7]) und Orudschiew[8]).

Die bei den Antikörperreaktionen hervortretende Spezifität der chemischen Gruppierung des Protoplasmas erlaubte einen tieferen Einblick in die Differenzierung der verschiedenen Lebewesen, als es vorher mit Hilfe der histologischen und chemischen Methoden möglich war.

Nachdem meine Versuche (Münch. med. Wochenschr. H. 38, 1899) mit Blut und Epithel schon ergeben hatten, daß man mit Epithel Antikörper gegen Epithel und Blut erhält, während Erythrocyten Antikörper nur gegen Blutkörper, nicht aber gegen Epithel auslösen (vgl. hierzu auch meine Arbeit[9]) aus Ehrlichs Institut), zeigten Ehrlich und Morgenroth[10]), daß sich in Rindererythrocyten verschiedene Antigene nachweisen lassen, von denen einige sich auch im Ziegenblut vorfinden, andere hingegen nicht. — Sie führten dabei die Methode der elektiven Absorption in die Immunitätsforschung ein, die

[3]) Centralbl. f. Bakt., **XXX**, 491, **1901** [*535*].
[4]) Ebenda, **XXX**, 483, **1901** [*481*],
[5]) Münch. med. Wochenschr., H. 49/50, **1909** [*209*].
[6]) Ebenda, H. 24, **1910** [*210*].
[7]) Zeitschr. f. Immunitätsf. **III**, 451, **1909** [*596*].
[8]) Ebenda, **XVI**, 268, **1913** [*496*].
[9]) Münch. med. Wochenschr., H. 28, **1900** [*340*].
[10]) Berl. klin. Wochenschr., H. 21/22, **1901** [*197*].

später in vielfachen ähnlichen Versuchen benutzt worden ist. Wir sehen somit, daß die Spezifität, welche wir bei den serologischen Reaktionen antreffen, sich nicht auf die gesamte Protoplasmastruktur der einzelnen Arten bezieht, sondern auf bestimmte Bestandteile, die Rezeptoren, die für eine bestimmte Art oder eine Gruppe von Arten charakteristisch sein können. Die Immunsera, die gegen zellige Elemente gerichtet sind, sind nicht einheitlicher Natur, und die verschiedenen Typen der Rezeptoren besitzen eine mehr oder weniger ausgesprochene Artspezifität. So gelangten Ehrlich und Morgenroth zu einer neuartigen prägnanten Definition des Spezifitätsbegriffes: „daß von einer Spezifität der durch Immunisierung mit Zellen erhaltenen Immunkörper nur in dem Sinne gesprochen werden kann, daß hierunter jedesmal die spezifischen Beziehungen zwischen den einzelnen Typen von Immunkörpern und von Rezeptoren verstanden werden".

Auch für die praktische Verwertung der Antikörperreaktion, für die Diagnostik der verschiedenen Infektionserreger und Eiweißarten, die eine so große klinische und forensische Bedeutung gewonnen hat, ist diese Erkenntnis nicht unwichtig, da es gelingt, durch spezifische Absorption und durch besondere Art der Immunisierung die für die Diagnose wichtigen Sera spezifischer zu gestalten.

Während bei der Untersuchung der roten Blutkörperchen die verschiedenen Tierarten im allgemeinen recht verschieden differenzierte Rezeptoren aufweisen, kann bei der Antikörpererzeugung durch Organgewebe die Artspezifität der Rezeptoren noch mehr zurücktreten; es kann vorkommen, daß auch entfernte Tierarten die gleichen Rezeptoren besitzen, und zwar entweder im gleichen Organ oder auch in verschiedenen (vgl. hierzu die im Anschluß an die Mitteilungen Forßmans in Ehrlichs Institut vorgenommenen Untersuchungen von Orudschiew, l. c. [8]). Auch die verschiedenen Organe desselben Tieres können einerseits verschiedene, andererseits gleichartige oder ähnliche Rezeptoren besitzen. Andere Rezeptoren können wieder eine außerordentliche Verbreitung bei verschiedenen Tierspezies besitzen, wie das den Ausführungen Ehrlichs entspricht (l. c. [10], [11]). In einzelnen Fällen tritt ausgesprochene Organspezifität in die Erscheinung; so besitzt die Augenlinse, wie Uhlenhuth fand, Rezeptoren, die bei allen Wirbeltieren identisch sind und doch in anderen Organen nicht gefunden werden. Im allgemeinen sind aber die Organe sehr kompliziert zusammengesetzt, ohne daß eine Übereinstimmung der Rezeptorenart mit dem anatomischen oder histologischen Bilde konstatiert werden kann.

[11]) Schlußbetrachtungen in Nothnagels Spezielle Pathol. u. Ther., **VIII**, **1901** [75].

Eine noch viel weitergehende Differenzierung der einzelnen Lebewesen in bezug auf die Eigenschaften ihrer Rezeptoren hat sich gezeigt, als man Tiere mit zelligen Elementen der gleichen Tierart vorbehandelte. Ehrlich und Morgenroth (l. c. [1]) haben die ersten experimentellen Beobachtungen erhoben. Als Ehrlich und Morgenroth bei Ziegen lackfarben gemachtes Ziegenblut in größerer Menge injizierten, erhielten sie in mehreren Fällen hämolytische Immunkörper gegen das Blut von Ziegen (Isohämolysine); die Blutkörperchen verschiedener Ziegen wurden aber nicht in gleicher Weise beeinflußt, sondern verschieden stark, und zwar ließ sich nachweisen, daß die bei drei Ziegen dargestellten Hämolysine alle drei verschieden waren. Es wurde weiter festgestellt, daß auch dann verschiedene Hämolysine auftreten, wenn zwei verschiedene Ziegen in gleicher Weise mit demselben Blut vorbehandelt worden sind. Die Artspezifität für Ziegenblut war auffallenderweise nicht immer ausgeprägt; es kam vor, daß das durch Ziegenblut ausgelöste Hämolysin in geringem Grade auch Hammelblut angriff, obgleich es nicht für jedes Ziegenblut wirksam war. Es zeigte sich ferner die Eigentümlichkeit, daß das Blut der Antikörper produzierenden Ziege gegenüber dem eigenen Hämolysin immer unempfindlich war. Es ergab sich hieraus also zum ersten Male eine biochemische Differenzierung zwischen homologen Zelltypen der gleichen Art und gleichzeitig eine überraschende Vielheit der Rezeptoren. Die weiteren Untersuchungen, die vor allem von Landsteiner (Wien. kl. Wochenschr., 1901), v. Dungern und Hirschfeld (Zeitschr. f. Immunitätsf. 1909, 1910, 1911), Todd und White (Journ. of. Hyg., 1910) angestellt wurden, haben eine sehr weitgehende Differenzierung der Blutkörperchen der Menschen und der Rinder ergeben, so daß sogar eine individuelle Blutdiagnostik möglich erscheint. Von besonderem Interesse ist es, daß die Eigenschaft der Blutkörper mancher Menschen, durch Isoagglutinine agglutinabel zu sein, sich nach der Mendelschen Regel vererbt (Zeitschr. f. Immunitätsf. VI, 1910). Damit ist die serologische Einheit, in diesem Falle wenigstens, gleichzeitig Vererbungseinheit.

6.

# Konstitution der Toxine.

Von

**Hans Aronson,**

Berlin.

Wenn man bedenkt, wie unüberwindlich noch immer die Schwierigkeiten sind, welche sich einer Analyse und Definition der unter dem Sammelbegriff der „Toxine" zusammengefaßten spezifischen löslichen Gifte bakteriellen, pflanzlichen oder tierischen Ursprungs mit den Hilfsmitteln der Chemie in den Weg stellen, so muß man um so höher den Stand der Kenntnisse bewerten, den das Studium der Toxine in relativ kurzer Zeit erreicht hat. Die quantitative, zahlenmäßige Behandlung der Probleme, mit welcher Ehrlich bereits seine ersten grundlegenden Arbeiten auf dem Immunitätsgebiete begann, führten ihn auch hier im Verein mit der von ihm inaugurierten strukturchemischen Betrachtungsweise zu einer scharfen Definition der Fragestellung, welche die Wege in das unbekannte Land wies. Seit der Entdeckung der antitoxischen Immunsera hatte man zwar ein biologisches Merkmal der Toxine, ihre Antigennatur, d. h. die Fähigkeit, im tierischen Organismus eine spezifische Antikörperbildung auszulösen, erkannt, und man wußte, daß ebenso wie die Toxine auch die im Körper des Tieres gebildeten Antikörper, welche die Wirkung des Giftes aufzuheben vermögen, spezifisch sind. Aber über die Art dieser spezifischen Reaktionen war man lange Zeit im Unklaren. Glaubte man doch vielfach, daß entsprechend der insbesondere von Roux und Buchner vertretenen Auffassung das Antitoxin indirekt durch Vermittlung des Organismus wirke. Demgegenüber sprachen aber bereits eine Reihe älterer Beobachtungen zugunsten des von Behring und Ehrlich von Anfang an eingenommenen Standpunktes, nach welchem die Antitoxine eine direkte Wirkung auf die Toxine ausüben.

So konnte ich für das Diphtheriegift und sein Antitoxin zeigen,

daß geeignete Gemische von Diphtheriegift und Diphtherieserum sich im Tierversuch unschädlich erwiesen, während zur gleichen Schutzwirkung bei vorhergehender Seruminjektion und nachfolgender Gifteinverleibung ein mehrfaches Antitoxinmultiplum erforderlich war. Die im Reagenzglas vor sich gehende giftparalysierende Wirkung durch das Antitoxin ist also viel intensiver, als wenn wir den Weg durch den Organismus dazwischen schalten, wobei für die Entfaltung einer immunisierenden Wirkung auf die Zellen die Verhältnisse viel günstiger liegen müßten. Erfahrungen ähnlicher Art sind dann bei verschiedenartigen Toxinen von einer Reihe von Autoren beschrieben worden. Aber gewissermaßen das experimentum crucis, welches die Frage nach der Art der Antitoxinwirkung jeder Diskussion entzog, ist erst von Ehrlich durch die berühmten Reagenzglasversuche mit Ricin erbracht worden. Diese stellten den absolut zwingenden Beweis dafür, daß die Mitwirkung des lebenden Körpers für die Wirkung des Antitoxins nicht notwendig ist.

Ehrlich[1]) zeigte, daß die in vitro eintretende Agglutination der roten Blutkörperchen durch Ricin ausbleibt, wenn man Antiricin zusetzt. Da diese giftaufhebende Wirkung auch eintrat, wenn die Blutkörperchen vorher in geeigneter Weise abgetötet waren, so schloß Ehrlich, daß es sich hier um einen rein chemischen Vorgang handeln müsse, bei dem die Vitalität der Zellen keine Rolle spielt. Für eine direkte Einwirkung beider Substanzen aufeinander sprach insbesondere auch der durch Morgenroth[2]) gelieferte Nachweis der Wirkung des spezifischen Antilabs auf das Lab, wobei die Interferenz von Zellen überhaupt ausgeschlossen war. Nur hingewiesen sei darauf, daß späterhin die von Ehrlich zum ersten Male demonstrierte Antikörperwirkung in vitro in zahlreichen Fällen bestätigt wurde.

Nach der Erkenntnis, daß das Antitoxin nicht durch Vermittlung des lebenden Organismus, sondern direkt auf das Gift wirkt, waren allerdings noch zwei verschiedene Möglichkeiten vorhanden, die Aufhebung der Giftwirkung zu erklären. Das Antitoxin konnte zerstörend auf das Toxin wirken, oder es konnte dasselbe durch chemische Bindung neutralisieren. Aus den ermittelten Tatsachen schloß Ehrlich frühzeitig, daß der letztere Vorgang zutreffend ist.

Für die Vorstellung der chemischen Bindung waren die zuerst von Ehrlich[3]) festgestellten quantitativen Beziehungen des Toxins und Antitoxins beweisend. Die Einwirkung des Antitoxins ist nach diesen Feststellungen keine fermentative, wie vorher von manchen Autoren ange-

[1]) Fortschritte der Medizin, **XV**, 41, **1897** [*61*].
[2]) Centralbl. f. Bakt. **XXVI**, 349, **1899** [*445*].
[3]) Klin. Jahrbuch, **VI**, 299, **1897** [*60*].

nommen wurde, sondern sie folgt dem den chemischen Verbindungen zukommenden Gesetz der konstanten Proportionen.

Wenn 10 Teile Antitoxin 10 Teile Gift neutralisieren, so binden 100 Teile Antitoxin 100 Teile Toxin. Diese von Ehrlich von Anfang an betonten, streng quantitativen Beziehungen der Toxine zu den Antitoxinen sind später die Grundlage geworden, für ein weiteres Eindringen in den Bau und die Konstitution der Toxine.

Eine weitere Analogie mit chemischen Bindungen stellte Ehrlich bei dem Studium der Einwirkung des Antitetanolysins auf das entsprechende Gift fest. Er fand, daß die Vereinigung in konzentrierten Lösungen viel schneller vor sich geht, als in verdünnten, und in der Wärme rapider, als in der Kälte.

„Man wird annehmen müssen, daß diese Fähigkeit, Antikörper zu binden, auf Anwesenheit einer spezifischen Atomgruppe des Giftkomplexes zurückzuführen ist, die zu einer bestimmten Atomgruppe des Antitoxinkomplexes eine maximale, spezifische Verwandtschaft zeigt und sich an sie leicht anfügt, wie Schlüssel und Schloß nach einem bekannten Vergleich von Emil Fischer."

In diesen Ausführungen (l. c. [3]) war bereits das Wesentliche der Ehrlichschen Konzeption enthalten. Es geht aus ihnen insbesondere hervor, daß außer der direkten Giftwirkung auf den Organismus eine zweite für das Toxin charakteristische Funktion erkennbar ist, die Bindung mit dem spezifischen Antikörper. Und wenn ein Zweifel daran, daß das Wesen der Toxin-Antitoxinreaktion in einer chemischen Verbindung besteht, überhaupt noch möglich war, so wurde er zerstreut durch die später Morgenroth geglückte einwandfreie Demonstration der Wiedergewinnung des Toxins aus seiner Antitoxinverbindung, welche mit aller Evidenz zeigte, daß das Toxin durch das Antitoxin ganz im Sinne der Lehre Ehrlichs nicht zerstört wird.

Auf der fundamentalen Entdeckung Ehrlichs, daß die Giftwirkung der Toxine auf den Organismus mit ihrem Bindungsvermögen für die Antitoxine nicht parallel geht, beruht die ganze weitere Erkenntnis und der Einblick in die Konstitution und Wirkung der Toxine (l. c. [3]). Dies trat besonders deutlich in die Erscheinung bei dem Studium der Giftlösungen, die zu verschiedenen Zeiten nach ihrer Gewinnung untersucht wurden. Bei gleichbleibendem Vermögen, Antitoxin zu binden, nahm die Toxizität rapide ab. Toxizität und Bindungsvermögen sind also zwei von einander unabhängige Funktionen des Giftmoleküls.

Die Seitenkettentheorie Ehrlichs, die an anderer Stelle dieses Werkes näher dargelegt wird, erklärt dies durch das Bestehen zweier spezifischer Atomkomplexe im Giftmolekül, einer toxophoren Gruppe, die

relativ leicht der Zersetzung anheimfällt und die eigentliche Giftwirkung vermittelt, und einer haptophoren Gruppe. Die letztere verbindet sich mit dem Antitoxin, veranlaßt im Tierkörper die Verankerung an die Gewebe und ist sehr stabil. Daß die Verschiedenheit dieser beiden Gruppen nicht allein ein theoretisches Postulat ist, sondern tatsächlich existiert, zeigten auch die von Morgenroth[4]) in Verfolg einer Beobachtung von Courmont ausgeführten Untersuchungen, nach denen Frösche nur bei höherer Temperatur an Tetanusvergiftung sterben, das Gift aber schon bei niederer Temperatur binden. Diesem Phänomen entsprechen auch Reagenzglasversuche, in denen gewisse hämolytische Toxine, so das Tetanolysin (Madsen, l. c. [7]) und das Staphylolysin (Neißer und Wechsberg, l. c. [11]) zwar bereits in der Kälte gebunden werden, aber erst bei höherer Temperatur zur Wirkung gelangen.

Da unsere jetzigen Kenntnisse von der Konstitution der Toxine sich in erster Linie auf die Arbeiten Ehrlichs über das Diphtherietoxin und seine Beziehungen zu dem Antitoxin gründen, so sollen diese zunächst ausführlicher besprochen werden.

Die ersten Studien Ehrlichs auf diesem Gebiet sollten anfangs nicht allein der Lösung wissenschaftlicher Fragen dienen, sondern waren zugleich von der praktisch so außerordentlich bedeutsamen Wertbemessung des Diphtherieheilserums ausgegangen. Als Maßstab für den Gehalt des Diphtherieserums an Antitoxin diente das Diphtheriegift. Behring charakterisierte sein sogenanntes Normalserum dadurch, daß es in einer Menge von 0,1 ccm das Zehnfache der einfach tödlichen Dosis eines ursprünglich von ihm benutzten Diphtheriegiftes neutralisierte. Das völlige Aufheben der Giftwirkung wurde dadurch erkannt, daß eine Injektion des Gemisches bei 250 g schweren Meerschweinchen keinerlei Krankheitserscheinungen bewirkte, speziell an der Injektionsstelle keine Infiltration erzeugte. 1 ccm des Behringschen Normalserums enthielt also soviel Antitoxin, um 100 tödliche Gaben des damals von ihm benutzten Giftes völlig unschädlich zu machen. Diese Antitoxinmenge wird eine Immunitätseinheit (I.E.) genannt. Da nun, wie schon oben erwähnt, die toxischen Wirkungen des Diphtheriegiftes außerordentlich labil sind, so ist dieser Maßstab ursprünglich ein willkürlich gewählter. Es zeigt sich dies bei der Prüfung des Diphtherieserums zunächst dadurch, daß dieselbe Antitoxinmenge bei einem anderen Gift zur völligen Paralysierung der Wirkung nur für eine bedeutend geringere Anzahl von letalen Dosen hinreichen kann.

Die Verhältnisse werden dadurch um so komplizierter, als schon die

[4]) Arch. internat. de Pharmacodyn. et de Thérapie, **VII**, 265, **1900** [*447*].

frisch bereitete Giftlösung Stoffe in wechselnden Verhältnissen enthält, die wenig oder gar nicht giftig sind, die aber doch die Fähigkeit haben, Antitoxin zu binden. Zu einer völligen Absättigung einer bestimmten Giftbouillon wird um so mehr Antitoxin gebraucht, je mehr von diesen nichtgiftigen, aber antitoxinbindenden (haptophoren) Stoffen vorhanden sind. Dazu kommt, daß das Gift beim Aufbewahren weiteren Veränderungen unterliegt, die zu einer Abschwächung bei Erhaltung der bindenden Gruppen führen. Anders verhält es sich mit dem Antitoxin. Das Heilserum kann, wie Ehrlich gezeigt hat, in völlig trockenem Zustand und in luftleerem Raum unbeschränkt lange ohne Veränderung seiner Wirksamkeit aufbewahrt werden. Es eignet sich also viel besser als feststehender Maßstab für die Wertbemessung des Diphtherieheilserums.

Zur genaueren Analyse des Diphtherietoxins hat Ehrlich nun verschiedene Werte zahlenmäßig bestimmt. Es ist dies zunächst die einfach tödliche Dosis oder auch eine Gifteinheit, dosis letalis (D.L.). Auf Grund langjähriger Erfahrungen wurde als solche diejenige Quantität Toxin bezeichnet, welche jedes Meerschweinchen von 250 g sicher im Laufe des 4., allerhöchstens des 5. Tages tötet. Bei empfänglichen Tieren kann die tödliche Wirkung ausnahmsweise schon schneller, z. B. nach zwei Tagen eintreten. Tötet eine Giftmenge ausnahmslos alle Versuchstiere akut binnen 36—48 Stunden, so enthält sie mehr als die einfach tödliche Dosis. Ferner wurden von Ehrlich zur genaueren Charakterisierung des Diphtheriegiftes noch zwei Grenzwerte festgelegt, nämlich:

$L_0$ (= limes o) ist diejenige Giftmenge, die von einer Immunitätseinheit (I.E.) derart neutralisiert wird, daß nach einer Injektion der Mischung bei 250 g schweren Meerschweinchen gar keine Giftwirkung weder allgemeiner, noch lokaler Natur in die Erscheinung tritt. Diese Giftmenge kann zahlenmäßig bestimmt werden durch die Zahl der einfach tödlichen Dosen, die in ihr enthalten sind, $L_0 = a$ D.L.

$L_+$ (= limes Tod) gibt diejenige Menge an, bei der trotz des zugesetzten Antikörpers ein solcher Giftüberschuß vorhanden ist, daß der Tod des Versuchstieres binnen 4 Tagen eintritt. Die Injektion eines solchen Gemisches wirkt also genau so, als wenn eine einfach tödliche Gabe injiziert wird.

Würde das Diphtheriegift einen einheitlichen chemischen Charakter haben und sich mit dem Antitoxin etwa wie NaOH und HCl vereinigen, so müßte die Differenz $L_+ - L_0$ gleich der einfach tödlichen Dosis sein. In Wirklichkeit ist aber diese Differenz erheblich größer, und wir kommen zu dem Fundamentalsatz, daß

$$L_+ - L_0 > 1 \text{ D.L.}$$

ist, ein Satz, der von großer Bedeutung für die Erforschung der Konstitution der Gifte ist. Mit Hilfe dieser Werte ist es Ehrlich gelungen, die Zusammensetzung der Giftbouillon klarzulegen. In mühevollen Untersuchungen hat zuerst Ehrlich, später Madsen und andere Schüler von ihm (Morgenroth, v. Dungern) bei einer Zahl von Diphtheriegiften diese Konstanten bestimmt. Die Antitoxineinheit (I.E.) ist ursprünglich eine willkürliche, nach einem bestimmten Gift eingestellte Größe. Sie paralysierte völlig 100 letale Gaben dieses Giftes, d. h. $L_0 = 100$ D.L. Bei den von Ehrlich genau untersuchten Giften schwankte die Größe von $L_0$ zwischen 27 und 108. Wie schon oben erwähnt, büßt ein und dieselbe Diphtheriegiftlösung im Laufe der Zeit erheblich an Giftigkeit ein, verändert dabei aber ihr Bindungsvermögen für das Antitoxin nicht. Es folgt hieraus, so schloß Ehrlich, daß ein Teil der Toxine in eine Modifikation übergegangen ist, welche die charakteristische bindende, haptophore Gruppe in voller Integrität enthält, dabei aber an Giftigkeit verloren hat, indem die toxophore Gruppe unwirksam geworden ist. Diese so charakterisierten Stoffe nennt Ehrlich (l. c. [3]) **„Toxoide“**.

Aber auch bei der Untersuchung ganz frischer Gifte findet man, daß stets

$$L_+ - L_0 > 1 \text{ D.L.}$$

ist, eine Erscheinung, welche nur dadurch erklärt werden kann, daß auch im frischen Diphtheriegift Körper vorhanden sind, die zwar eine geringere Verwandtschaft zum Antitoxin, aber die gleichen bindenden Gruppen haben. Diese wurden von Ehrlich zuerst als „Epitoxoide“, später[5]) auf Grund einiger Erscheinungen, die ich gleich besprechen werde, als **„Toxone“** bezeichnet. Von den ungiftigen Toxoiden, deren Auftreten hauptsächlich die Abschwächung des Diphtheriegiftes erklärt, unterscheiden sich die von Anfang an in der Giftbouillon enthaltenen Toxone dadurch, daß die Erscheinungen, die sie beim Meerschweinchen hervorrufen, qualitativ verschieden sind von den durch das echte Toxin verursachten, ferner, wie gesagt, dadurch, daß ihre Verwandtschaft mit dem Antitoxin — die Avidität ihrer bindenden Gruppe — eine geringere ist, als die der Toxine und Toxoide. Der Gehalt jeder, auch der frischen Giftbouillon an Toxonen erklärt die eben konstatierte Erscheinung, daß $L_+ - L_0$ stets größer als 1 D.L. ist.

Die Toxone sind also fast immer in ganz frischen Giften vorhanden, vermehren sich jedoch nicht beim Lagern der Bouillon. Ehrlich sieht sie daher als ein primäres Produkt des Diphtheriebacillus

[5]) Deutsche med. Wochenschr., H. 38, **1898** [*62*]. cf. auch Transactions of the Jenner Institute of preventive medicine, **1899** [*65*].

an, das hauptsächlich für das Auftreten der Lähmungen verantwortlich zu machen ist. Sie bewirken Effekte, die durch Bruchteile des reinen Toxins nicht hervorzubringen sind. Die mit $\frac{1}{2}$ bis $\frac{1}{4}$ einer einfachen tödlichen Dosis Diphtheriegift injizierten Meerschweinchen bekommen ausgedehnte Infiltrate, die zu Nekrosen führen; die Haare fallen in weitem Umfang aus, und die Tiere sterben meist später unter starker Abmagerung, aber gewöhnlich ohne Lähmung. Da in der Regel in einer nativen Giftbouillon das Toxin weit konzentrierter als das Toxon enthalten ist, so ist in Bruchteilen der dosis letalis, die den Meerschweinchen eine zur Beobachtung der Toxone ausreichende Lebenszeit lassen, zu wenig Toxon enthalten, um die typischen Lähmungen zu erzeugen. Bindet man aber das avidere Toxin durch Serumzusatz soweit, daß das Toxon noch frei ist, so kann man nach Injektion solcher Gemische die reine Toxonwirkung erkennen. Es tritt nur eine vorübergehende Schwellung an der Impfstelle, jedoch keine Nekrose, kein Haarausfall auf; die Tiere sterben erst nach mehreren Wochen, ohne daß sie andere Veränderungen als Lähmungen zeigen.

Während, wie gesagt, die Toxone als direkte Sekretionsprodukte des Diphtheriebacillus aufzufassen und daher primär fast in jeder Giftbouillon enthalten sind, entstehen die Toxoide sekundär, besonders beim Lagern der Gifte oder auch durch andere Einwirkungen aus den Toxinen. Es ist ohne weiteres klar, daß je höher der Gehalt einer Giftlösung an Toxonen ist, um so größer die Differenz $L_+ - L_0$ (der Wert wird kurz D genannt) ausfallen muß. Denn die Toxone sind die einzigen Bestandteile der Giftbouillon, deren Avidität zum Antitoxin geringer ist als die des echten Toxins.

Der zahlenmäßig durch die Differenz $L_+ - L_0$ bestimmbare Anteil der Giftbouillon an Toxonen schwankt außerordentlich. Bei einem von Ehrlich untersuchten Gift war er nahezu gleich Null (D = 1,7 D.L.), während Dreyer und Madsen ein Gift untersucht haben, das dreimal soviel Toxon als Toxin enthielt. Es ist übrigens leicht verständlich, daß bei einem so hohen Toxongehalt auch die Injektion subletaler Dosen ohne Serumzusatz reine Toxonwirkung in die Erscheinung treten lassen kann, während die Demonstration in den meisten nativen Giftlösungen an dem zu geringen Toxongehalt scheitert.

Auf Grund der obigen Darlegungen hat Ehrlich die Konstitution eines Diphtheriegiftes im allgemeinen durch folgende Formel ausgedrückt:

$$x \text{ Toxoid} + y \text{ Toxin} + z \text{ Toxon}.$$

Der $L_0$-Wert besagt, daß alle drei Gruppen völlig neutralisiert sind. Berechnet man die in dem $L_0$-Wert absolut enthaltenen tödlichen Dosen, so

entspricht die gefundene Zahl $a$ genau den Äquivalenten des Toxins (y). Der $L_+$-Wert bedeutet, daß die z Toxon-Antitoxine durch Toxin ersetzt sind und noch eine freie, den Tod bewirkende Toxingruppe vorhanden ist. Für die Bestimmung des Gehaltes an Toxonen dient die Differenz (D) $L_+ - L_0$. Maßgebend ist die Größe $D - 1$, die Ehrlich als $\beta$ bezeichnet, weil ja in $L_+$ ein Überschuß von 1 tödlichen Dose enthalten ist. Würde eine Giftbouillon nur aus Toxin und Toxon bestehen, so würde diese Größe genau der Zahl der Äquivalente der in $L_0$ enthaltenen Toxone entsprechen. Es wäre in diesem Fall $\beta = z$. Sind jedoch, wie stets in der Giftbouillon noch Toxoide enthalten, so stellt die Größe $\beta$ nur einen relativen, keinen absoluten Wert dar, sie wird daher als eine Funktion von $\beta$ mit F ($\beta$) bezeichnet. Als Sinnbild für die Konstitution einer bestimmten Giftlösung dient daher die Formel

$$x \text{ Toxoid} + a \text{ Toxin} + F(\beta) \text{ Toxon}.$$

Wie wir oben gesehen haben, war ursprünglich von Behring diejenige Menge Antitoxin als Einheit (I.E.) genommen, welche 100 tödliche Dosen eines von ihm hergestellten Giftes völlig neutralisierte. Bei solchen Giften ist also der Wert $L_0 = 100$. Diese Zahl findet man tatsächlich nicht selten bei frisch untersuchten Giften. Es sind jedoch eine Anzahl Gifte bekannt gegeben, bei denen eine Immunisierungseinheit weniger als 100 D.L. völlig neutralisiert, wo $L_0$ also $< 100$ D.L. ist. In anderen Fällen ist die Zahl 100 überschritten worden. So betrug bei einem von Ehrlich untersuchten Gift die Höchstzahl von $L_+$ 130, und Madsen fand ein Gift, von dem 160 D.L. in $L_+$ enthalten waren. Andererseits ist aber die in $L_+$ enthaltene Zahl von tödlichen Dosen immer unterhalb 200 geblieben. Ja, selbst die Zahl 200 ist auch bei Untersuchung von ganz frischen Giften (Filtrate von Kulturen, die nur wenige Tage im Brutschrank gestanden haben) niemals erreicht worden. Da man nun auch bei denjenigen Giften, die im $L_0$-Wert 100 tödliche Dosen enthalten, eine reine Konstitution aus Toxinmolekülen nicht annehmen kann, andererseits, aus Gründen, auf die ich gleich zu sprechen kommen werde, der Zerfall des Giftes in Toxoide sich nach Gesetzen einfacher Proportion vollzieht, so gelangt Ehrlich mit Rücksicht darauf, daß $L_+$ niemals 200 tödliche Dosen überschreitet, zu der Schlußfolgerung, daß 1 Immunitätseinheit 200 Bindungseinheiten entspricht.

Bei einem absolut reinen Gift (ohne Toxone und Toxoide) würde also $L_0$ 200, $L_+$ 201 betragen. Das erwähnte Behringsche Testgift, von dem 100 tödliche Dosen durch 1 I.E. abgesättigt wurden, bestand also zur Hälfte aus reinem Toxin.

Eine Immunitätseinheit hat demnach 200 Bindungseinheiten, d. h.

$$1 \text{ I.E.} = 200 \text{ B.E.}$$

Es folgt, daß in der oben aufgestellten Formel

$$x + y + z = 200$$

zu setzen ist. Hieraus läßt sich nun die Menge der Toxone mit Benutzung der oben charakterisierten Größen $\alpha$ und $\beta$ berechnen. Enthält ein bestimmtes Gift $\alpha$ Äquivalente Toxin und z Toxon, so hat es, da die Summe von Toxoiden, Toxinen und Toxonen 200 ist, folgende Zusammensetzung:

$$(200\text{-}\alpha\text{-}z) \text{ Toxoide} + \alpha \text{ Toxin} + z \text{ Toxon.}$$

Beim Hinzufügen einer Immunisierungseinheit sind alle diese Bestandteile völlig gesättigt, und wir haben so den $L_0$-Wert. Um zum $L_+$-Wert zu gelangen, muß außer 1 D.L. noch so viel Gift hinzugefügt werden, daß die z Toxon-Antitoxin durch das Gemisch von Toxoid und Toxin, das in der Bouillon enthalten ist, völlig zerlegt werden. Um ein Toxon in Freiheit zu setzen, braucht man den Zusatz von $\frac{1}{200 - z}$ des Toxin-Toxoid-anteils, wovon $\frac{1}{200 - z}\alpha$ der Toxinkomponente entspricht. Um z Toxon-Antitoxin völlig zu zerlegen, braucht man also $\frac{z}{200 - z}\alpha$-Toxin. Soviel Gifteinheiten muß man daher zu $L_0$ zusetzen, um ein Gemisch zu erzielen, in dem sämtliche Toxone frei sind, in dem dann eine weiter hinzugesetzte Gifteinheit (1 D.L.) zu dem Wert $L_+$ führt, d. h. es muß diese Größe $= \beta$ sein. Wir können daher den Gehalt einer Giftbouillon an Toxonen (z) auf Grund folgender Gleichung finden:

$$\beta = \frac{z}{200 - z}\alpha$$

Es folgt nämlich hieraus:

$$200\,\beta - z\beta = z\,\alpha,$$

und weiter:

$$z\alpha + z\beta = 200\,\beta$$

$$z\,(\alpha + \beta) = 200\,\beta$$

$$z = \frac{200\,\beta}{\alpha + \beta}$$

---

Einen noch genaueren Einblick in die Konstitution der Gifte gewährt ein zweites, von Ehrlich (l. c. [5]) ersonnenes, außerordentlich scharf-

sinniges Verfahren, welches weiter die Bestätigung für manche, in der ersten Arbeit scheinbar willkürlich gemachte Angaben bringt, speziell eine Bestätigung der Aufstellung, daß eine Immunitätseinheit (I.E.) aus 200 Bindungseinheiten (B.E.) besteht. Es ist dies die Methode der „partiellen Absättigung" der Gifte mit Antitoxin.

Ehrlich ging dabei meist von der $L_0$-Dosis aus, die durch 1 I.E. völlig neutralisiert wird, und fügte nur Bruchteile der Immunitätseinheit hinzu in wechselnden Serummengen. Durch Injektion von Meerschweinchen wurde dann festgestellt, wieviel tödliche Dosen in den betreffenden unvollkommen neutralisierten Gemischen enthalten sind. Wäre die Avidität des Diphtheriegiftes eine gleichartige, und würde die Giftbouillon aus reinem Toxin bestehen, so müßte nach Verminderung um je 1 Bindungseinheit = $^1/_{200}$ I.E. immer eine tödliche Dosis (D.L.) frei werden. Enthielte die Giftbouillon außer dem Toxin nur Umwandlungsprodukte (Toxoide) von derselben Avidität wie das Toxin, so müßte durch Verminderung um 1 B.E. immer derselbe Bruchteil der Gifteinheit nachweisbar sein. Sind jedoch Stoffe von verschiedener Avidität vorhanden, dann werden bei Herabsetzung des Antitoxinzusatzes zunächst diejenigen frei, die die geringste Avidität besitzen (die Toxone), später diejenigen von gleicher Avidität (Toxine und Syntoxoide), zuletzt diejenigen, die die größte Verwandtschaft zum Antitoxin besitzen. — Das umgekehrte Verhältnis findet man, wenn man ein bestimmtes Gift mit steigenden Antitoxinmengen sättigt. Dann werden zuerst die Stoffe mit größter Avidität gebunden. Sind dieselben im Toxoidzustand vorhanden, so findet nach Zusatz von Antitoxin zunächst keine Herabsetzung der Toxizität statt, dann folgen die Toxine und Syntoxoide, zum Schluß erst die Toxone.

Die graphisch aufgestellten Resultate dieser partiellen Absättigungsversuche führten Ehrlich zur Aufstellung seines **„Giftspektrums"**, welches dadurch entsteht, daß in einem Koordinatensystem die Abszisse in 200 gleiche Teile geteilt wird, welche den 200 B.E. einer Immunitätseinheit entsprechen. Sie sind so geordnet, daß am Nullpunkt die am stärksten aviden Bindungseinheiten stehen und die Avidität zum Antitoxin nach rechts immer mehr abnimmt. Die Ordinaten entsprechen dem Giftgehalt, der an der betreffenden Aviditätsstelle vorhanden ist. Die Ordinaten sind überall bis zur Höhe gezeichnet, welche die Anzahl der in $L_0$ enthaltenen tödlichen Dosen bestimmt. Sie werden soweit ausgefüllt (schraffiert gezeichnet), wie es der Giftmenge entspricht (in Bruchteilen der tödlichen Dosis dargestellt), die beim Weglassen eines Bruchteiles der Immunitätseinheit (1 B.E.) frei wird.

Ist die ganze Ordinate ausgefüllt (schraffiert), so bedeutet es, daß

hier reines Gift zur Absättigung gelangt. In diesem Teil des Spektrums wird durch $^1/_{200}$ I.E. stets 1 tödliche Dosis (D.L.) gebunden. Es sind nun tatsächlich Gifte beschrieben worden, bei denen dies in einem Teil der Absättigung zutrifft, und Ehrlich erblickt hierin einen weiteren Beweis, daß **1 I.E. wirklich 200 Bindungseinheiten für reines Toxin enthält.** Die gesamte ausgefüllte Fläche der Ordinaten bedeutet die Menge der in $L_0$ enthaltenen tödlichen Dosen. Der nicht ausgefüllte Teil entspricht den Toxonen und Toxoiden. Ist die Ordinate nur zur Hälfte ausgefüllt, so bedeutet dies, daß an dieser Stelle erst durch 2 B.E. ($= {}^1/_{100}$ I.E.) eine dosis letalis neutralisiert wird. An dieser Stelle werden also von dem zugesetzten Antitoxin gleiche Teile Reingift und gleiche Teile Toxoide gesättigt. Dieser Giftanteil befindet sich in einem Stadium, das Ehrlich als **Hemitoxin** bezeichnet, weil hierbei das Reingift in gleiche Teile Toxin und Toxoid gespalten ist. Solche Teile findet man häufig in der Mitte des Spektrums.

Muß man mehr als 2 B.E. zufügen, um eine tödliche Dosis zu neutralisieren, so ist ein größerer Anteil des Giftes in Toxoide übergegangen. Das ist meist der Fall in dem Teil der Absättigungskurve, der den Toxonen benachbart ist. Es gibt jedoch auch Stadien, wo auch die Verminderung um große Mengen Antitoxin keine tödliche Giftmenge freimacht. Es trifft naturgemäß bei dem Toxonanteil zu, der dem am meisten rechtsliegenden Teil des Spektrums entspricht. Diese Tatsache haben wir schon am Eingange der Erörterung aus der Differenz $L_+ - L_0$ erkannt. Auch durch die Methode der partiellen Absättigung können wir daher den Toxonanteil einer Diphtheriegiftbouillon bestimmen. Tatsächlich sind mehrfach die aus der Größe $z = \frac{200\,\beta}{a+\beta}$ berechneten Werte in den Spektren mit der wünschenswerten Genauigkeit wiedergefunden worden.

Ein weiterer Anteil (er ist für eine später zu erörternde Streitfrage von besonderer Wichtigkeit geworden), in dem der Antitoxinzusatz für die Zahl der toxischen Dosen ohne Einfluß ist, findet sich gewöhnlich im Beginn des Spektrums. Man kann, anders ausgedrückt, einem Gifte oft beträchtliche Mengen Antitoxin zusetzen, ohne daß die Giftigkeit des Gemisches herabgemindert wird. Es werden also hier Giftmodifikationen abgesättigt, welche eine größere Avidität zum Antikörper haben, als das echte Toxin; diese werden „Prototoxoide" genannt.

Untersucht man nach dieser Methode der stufenweisen Absättigung Gifte von Zeit zu Zeit nach ihrer Gewinnung, so kann man genau die Änderungen verfolgen, die dieselben beim Lagern erleiden. Man findet, daß verschiedene Teile des Toxins eine verschieden große Neigung haben, in

ungiftige Modifikationen überzugehen. Es hat sich gezeigt, daß der Zerfall häufig zu dem oben gekennzeichneten Hemitoxinstadium führt, bei dem wegen Schwundes der einen Hälfte des Giftes ein halbwertiges Gift übrigbleibt. Diese leicht spaltbare Spielart des Giftes bezeichnet Ehrlich als $\alpha$-Modifikation, während die beständigere $\beta$-Modifikation genannt wird.

Die letztere ist bei verschiedenen Abarten des Giftes verschieden haltbar. Am leichtesten zerstörbar ist sie bei dem Giftteil, der die geringste Avidität zu dem Antitoxin hat, der also der Toxonzone benachbart ist. Diese Giftabteilung bezeichnet Ehrlich als Tritotoxin. Haltbarer ist die $\beta$-Modifikation des Toxinteils der größten Avidität, der als Prototoxin bezeichnet wird; die $\beta$-Modifikation des Prototoxins geht gewöhnlich erst, nachdem die Giftbouillon mehrere Monate gelagert hat, in Toxoid über. Die Umwandlung geschieht schließlich aber vollständiger, als beim Tritotoxin. Derart kann dann eine Prototoxoidzone dem Hemitoxinstadium im Spektrum vorangehen.

Am haltbarsten ist die $\beta$-Modifikation des Giftanteils von mittlerer Avidität, der Deuterotoxin genannt wird. Bewahrt man die Bouillon bei niederer Temperatur unter Toluolzusatz auf, so ist er vollkommen stabil. Aus dieser Tatsache erklärt es sich, daß nach einer längeren Zeit des Lagerns der Diphtheriebouillon ein Punkt erreicht wird, bei welchem die Toxizität und die Prüfungskonstanten (speziell der $L_+$-Wert) dauernd unverändert bleibt. Diese Stabilität des $\beta$-Deuterotoxins ist also von der größten Bedeutung für die Prüfungstechnik des Diphtherieheilserums.

Fassen wir nun die auf Grund zahlreicher Absättigungsversuche von Ehrlich gewonnenen Erfahrungen nochmals kurz zusammen, so finden wir, daß der Diphtheriebacillus zwei Arten von Giftkörpern produziert:

a) Toxine, b) Toxone.

Die Toxine zerfallen je nach ihrer Avidität zum Antitoxin in drei Unterabteilungen:

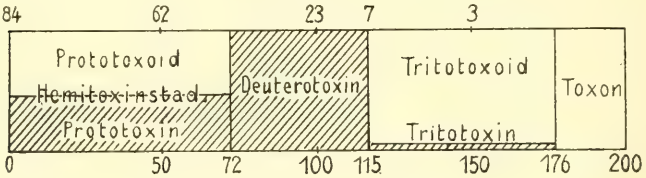
Prototoxine, Deuterotoxine und Tritotoxine.

Jede von ihnen besteht aus gleichen Teilen zweier verschiedener Modifikationen, die zerstörenden Einflüssen einen verschiedenen Widerstand entgegensetzen. Man kann sie sich etwa so vorstellen, wie rechts- und linksdrehende Spielarten organischer Substanzen. Die $\alpha$-Modifikation geht leicht, oft schon während der Giftbereitung im Brutschrank in das entsprechende Toxoid über. Die völlige Umwandlung führt in der entsprechenden Zone zu dem häufig zu beobachtenden Hemitoxinstadium. Die $\beta$-Modifikation wird beim Tritotoxin am leichtesten zerstört, so daß

in dieser Zone oft nur geringe Reste von Giften übrig bleiben. Es kommt häufig auf 7—9 Teile Toxoid nur 1 Teil Toxin. Haltbarer ist das $\beta$-Prototoxin, das oft erst nach mehreren Monaten, dann aber meist vollständig in Toxoid verwandelt wird. Völlig stabil zeigt sich das $\beta$-Deuterotoxin.

Ich will hier einige der von Ehrlich gewonnenen Giftspektren folgen lassen, die besser als jede Beschreibung die hier obwaltenden Verhältnisse illustrieren. Es ist natürlich unmöglich, von den 200 dem $L_0$-Wert entsprechenden Bindungseinheiten Einheit um Einheit abzusättigen. Es sind vielmehr die scharfen Trennungslinien durch Interpolation der im Grenzgebiet beobachteten Werte gewonnen.

Gift Nr. II

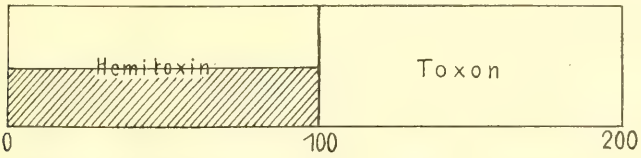



Das Spektrum Nr. II von Ehrlich ist das Resultat der Untersuchung eines Diphtherietoxins, das im $L_0$-Wert 84 tödliche Gaben enthielt. Die Strecke 200—176 entspricht dem Toxongebiet, weil durch Fortlassung von $^{24}/_{100}$ I.E. keine dosis letalis frei wird. Von 176—150 treten 3 tödliche Dosen in die Erscheinung, also etwa $^1/_9$ auf jede Bindungseinheit. Dasselbe trifft zu, wenn wir von 150—115 fortschreiten, wobei 4 weitere dos. let. erscheinen (vgl. die Zahlen an der oberen Seite des Spektrums). Von hier ab werden auf einmal für die Verminderung von 15 B.E. (115 bis 100) 16 D.L. frei, also eine ganze tödliche Gabe pro B.E. Dies ist, wie schon oben ausgeführt, ein Beweis, daß 1 B.E. $= {}^1/_{200}$ I.E. eine dos. let. absättigt, wenn das Gift rein, d. h. frei von Toxoiden ist. Der weitere scharfe Grenzwert, den wir bei 72 annehmen müssen, ist nicht direkt bestimmt, sondern konstruiert durch Verteilung der beobachteten Zunahme der Giftigkeit um 39 dos. let. auf der Strecke von 100—50 auf die Deutero- und Prototoxinzone im Verhältnis von $100 : {}^{22}/_{50}$. Diese Werte waren direkt gefunden im Anfang des Deuterotoxinteils (wie eben erwähnt) und am Schluß der Prototoxinzone, indem bei weiterem Herabschreiten von 50—0 B.E. 22 dos. let. frei werden, d. h. $^{22}/_{50}$ pro B.E. Das Prototoxin ist also in 2 fast gleiche Teile gespalten; die Hälfte ist als Toxoid vorhanden. Wir haben in diesem Bereich das Hemitoxinstadium.

Sehr interessant sind die folgenden 4 Spektra, die die Konstitution

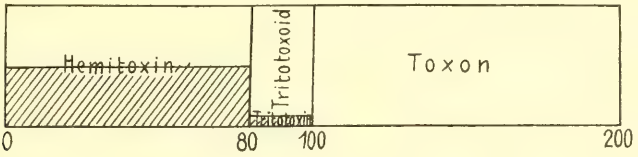
eines Giftes Nr. V in 4 Phasen darstellen. Es werden dadurch die Veränderungen illustriert, die das Gift beim Lagern erlitten hat.

Gift Nr. V; I. Phase.



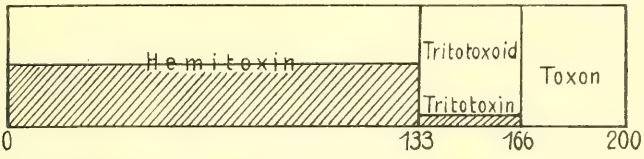

Einfache Zusammensetzung; die Hälfte besteht aus Toxon, das Toxin ist gleichmäßig in allen 3 Teilen zur Hälfte in Toxoid umgewandelt.

Gift Nr. V; II. Phase.



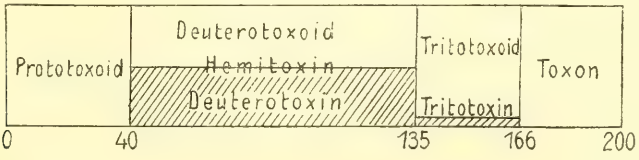

Bei Phase II ist das Tritotoxin schon zum größten Teil im Toxoid umgebildet.

Gift Nr. V; III. Phase.




Die Phase III ist charakterisiert durch die Verminderung der Toxonmenge, welche dadurch zutage tritt, daß der $L_0$-Wert beträchtlich gestiegen ist (von 0,125 auf 0,210 ccm), während die Toxizität dieselbe geblieben ist (sie betrug beide Male 0,03 ccm). Das Sinken des Toxonwertes erkennen wir auch daran, daß von Phase II bis Phase III der $L_+$-Wert sich nicht verändert hat (er betrug in beiden Phasen 0,26 ccm). Die Differenz beider Werte (D) ist also kleiner geworden, was ja die Verringerung des Toxongehaltes anzeigt. Ein Teil der Toxone ist in Toxonoide, Körper von völliger Ungiftigkeit, umgewandelt worden.

Gift Nr. V; IV. Phase.



Die IV. Phase zeigt die völlige Umwandlung des Prototoxins in Toxoid ($L_+$ bleibt = 0,26 ccm, während die dos. let. jetzt 0,04 ccm beträgt). Dies ist das Stadium, bei dem gewöhnlich weitere Veränderungen nicht mehr vor sich gehen, das Gift stabil bleibt.

Ehrlich hat schon beobachtet, daß ebenso wie aus den Toxinen auch aus den Toxonen ungiftige Körper, die Toxonoide, entstehen können (vgl. Gift V; Phase III), deren Bindungsfähigkeit für das Antitoxin (haptophore Gruppen) erhalten sind, und wohl auch bereits verschieden avide Toxonkomponenten supponiert (l. c. [5]). v. Dungern[6]) hat dann das Vorhandensein weiterer Stoffe in der Giftbouillon wahrscheinlich gemacht, welche die gleiche bindende Gruppe wie die übrigen Giftbestandteile enthalten, die aber wegen ihrer völligen Unschädlichkeit für das Meerschweinchen sich dem Nachweis bei der gewöhnlichen Methode der Giftabsättigung entziehen. Sie haben eine noch geringere Verwandtschaft zum Antitoxin, als das Toxon und werden daher von diesem Autor als Epitoxonoide bezeichnet.

Er kam zu dieser Annahme auf Grund der genaueren Untersuchung des sog. Danyszschen Phänomens im Ehrlichschen Institut. Dieser interessante Versuch besteht darin, daß eine Verstärkung der Giftwirkung eintritt, wenn man das Toxin nicht auf einmal, sondern sukzessive in einzelnen Portionen zum Antitoxin zusetzt. Eine Lösung von Toxin + Antitoxin, die, durch sofortiges Mischen mit der gesamten Toxinmenge entstanden, völlig neutral ist, wird giftig, wenn man das Toxin in einzelnen Portionen nacheinander zusetzt. Zu derselben Gruppe von Erscheinungen gehört die Tatsache, daß die Menge des Diphtheriegiftes, die nötig ist, um vom $L_0$- zum $L_+$-Wert zu gelangen, kleiner ist, wenn man sie nicht auf einmal hinzufügt, sondern erst einige Stunden nachdem man die $L_0$-Serummischung hergestellt hat. Dieses von v. Dungern genauer studierte Phänomen findet eine befriedigende Erklärung durch die von Ehrlich aufgestellte komplexe Konstitution des Diphtheriegiftes und durch das von Ehrlich betonte Moment der sekundären Verfestigung der Antitoxinverbindung. Es müssen im Diphtheriegift außer den eigentlichen Toxinen noch weitere antikörperbindende Bestandteile vorhanden sein, welche für die tödliche Wirkung des Giftes belanglos sind und langsamer als das echte Toxin mit dem Antitoxin reagieren. Nach der Vereinigung entstehen aber trotzdem feste, nicht mehr trennbare Verbindungen. Nehmen wir z. B. der Einfachheit halber an, das Gesamtgift setze sich aus gleichen Teilen Toxin und Toxon zusammen: Fügt man zu einer gegebenen Menge Serum so viel Giftbouillon, daß nur das Toxin,

[6]) Deutsche med. Wochenschr., H. 8/9, **1904** [*341*].

nicht mehr das Toxon gesättigt wird, so ist das Gemisch nicht mehr tödlich, sondern zeigt nur die lähmende Toxonwirkung. Fügt man jedoch zu derselben Menge Serum zunächst nur die Hälfte des Gesamtgiftes, so wird das Antitoxin sich gleichmäßig auf Toxin und Toxon verteilen und völlig gebunden werden. Wird diese Verbindung durch die zweite Hälfte des nunmehr zugefügten Toxins nicht wieder gesprengt, d. h. ist sie irreversibel geworden, so findet die zweite Portion der Giftbouillon kein Antitoxin mehr vor, und das Gemisch behält die tödliche Wirkung, wie es tatsächlich der Fall ist.

Auch bei zweizeitiger Absättigung des Antitoxins (I E.) durch kleine Giftmengen bleibt ein Teil des Antitoxins dauernd in Beschlag genommen, der bei gleichzeitiger Absättigung für die Neutralisierung neuen Giftes verfügbar würde. Da die hier vorhandene Toxonmenge viel zu gering ist, um diese Erscheinung zu erklären, kommt v. Dungern zu dem Schluß, daß neben dem Toxin und dem Toxon in der Giftbouillon noch ganz ungiftige Stoffe mit geringerer Verwandtschaft zum Antitoxin vorhanden sind, die er, wie schon erwähnt, Epitoxonoide nennt. Diese können naturgemäß mit der gewöhnlichen Absättigungsmethode nicht nachgewiesen werden. Das Vorhandensein der Epitoxonoide erklärt zugleich in einfachster Weise die Möglichkeit, mit physiologisch völlig neutralen, ja sogar überkompensierten Toxin-Antitoxingemischen zu immunisieren.

---

Außer bei dem Diphtherietoxin sind auch bei einer Reihe von anderen Giften Körper von Toxoidcharakter gefunden worden, d. h. Stoffe, die bei gleich avidem Bindungsvermögen für die Antikörper ihre spezifische Giftwirkung eingebüßt haben. Dieselben entstehen entweder beim Lagern der Giftlösung oder durch chemische oder physikalische Einflüsse. Behring hatte schon beobachtet, daß von einer frischen Tetanusgiftbouillon mehr tödliche Gaben (Gifteinheiten) zur völligen Sättigung einer bestimmten Antitoxinmenge (I.E.) nötig sind, als von einer durch längeres Stehen oder durch Chemikalien ($JCl_3$) abgeschwächten. Hieraus muß man auch im Tetanusgift auf das Vorhandensein von Toxoiden schließen. Zu derselben Folgerung kam Morgenroth (vgl. Madsen, l. c. [7]), der für das Tetanusspasmin nach der Ehrlichschen Methode der partiellen Absättigung ein Giftspektrum entwarf. Madsen[7]) hat dieselben Verhältnisse bei dem anderen, von den Tetanusbazillen produzierten Gift, bei dem blutkörperchenlösenden Tetanolysin gefunden.

Ehrlich[8]) hatte das Tetanolysin als selbständige Komponente

[7]) Zeitschr. f. Hyg. **XXXII**, 214, **1899** [*414*].

[8]) Berl. klin. Wochenschr., S. 273, **1898** [*63*].

der Tetanusgiftlösung neben dem Tetanospasmin entdeckt und zugleich die Verschiedenartigkeit der beiden Partialgifte mit aller Evidenz erwiesen. Als Prüfstein für die Wirkung der Gemische dient beim Tetanolysin statt des Tierversuchs die Lösung einer bestimmten Menge von roten Blutkörperchen. Madsen unterscheidet auch beim Tetanolysin ein Prototoxin, das durch seine Umwandlung in Prototoxoid seine blutlösende Wirksamkeit (seine toxophore Gruppe) verloren, aber nicht seine Bindungsfähigkeit für das Antiserum eingebüßt hat. Er fand auch hier den Anteil von mittlerer Avidität, das Deuterotoxin, am widerstandsfähigsten, während das Tritotoxin schnell und zum größten Teil in Toxoid verwandelt wird. Schließlich konnte er auch hier das Vorhandensein des sehr wenig giftigen Toxons feststellen.

H. Sachs[9]) führte später in Ehrlichs Laboratorium den Nachweis, daß Gemische von Tetanolysin und Antilysin verschieden giftig sind, je nachdem das Lysin auf einmal oder fraktioniert zu der gleichen Antilysinmenge zugesetzt wird. Im letzteren Fall erweist sich das Endgemisch von bedeutend stärkerer hämolytischer Wirksamkeit. Ebenso wie beim Diphtheriegift (vgl. v. Dungern l. c. [6]) kann diese Erscheinung nur durch die Ehrlichsche Annahme von der komplexen Konstitution der Gifte erklärt werden. Die Verbindung der weniger aviden Giftkomponenten mit dem Antitoxin erfährt eine Verfestigung, so daß die einmal gebundenen Giftanteile auch durch avidere Bestandteile nicht mehr oder nur teilweise aus ihrer Verbindung mit dem Antitoxin verdrängt werden können. Es folgt hieraus, daß das Tetanolysin toxonartige Bestandteile enthält. Aus einer der v. Dungernschen ähnlichen Versuchsanordnung, nämlich aus der Möglichkeit, auch den $L_0$-Wert durch geeignete Fraktionierung zu reduzieren, zieht Sachs den Schluß, daß auch im Tetanolysin ungiftige Bestandteile von noch geringerer Avidität als das Toxon — Epitoxonoide — vorhanden sind.

Die Gültigkeit des Danysz-Dungernschen Phänomens der Toxizitätserhöhung von Antitoxingemischen durch fraktionierten Zusatz des Toxins in zwei zeitlich getrennten Portionen hat Sachs[10]) später auch für das Staphylolysin, Arachnolysin und Lab bewiesen.

Angeregt durch die Befunde Ehrlichs hat man weiterhin bei vielen bakteriellen und pflanzlichen Toxinen nach dem Vorhandensein von Toxoiden geforscht. Es sind Körper dieses Charakters, abgesehen von Diphtherietoxin und den beiden Tetanusgiften, besonders auch im Staphylolysin durch Neißer und Wechsberg[11]), im Vibriolysin (Volk und

[9]) Berl. klin. Wochenschr., H. 16, **1904** [*543*].
[10]) Centralbl. f. Bakt. **XXXVII**, 251, **1904** [*544*].
[11]) Zeitschr. f. Hyg., **XXXVI**, 299, **1901** [*489*].

Lipschütz), im Schlangengift (Myers, Flexner und Noguchi), im Ricin und Krotin (Jacoby), im Abrin (Römer) und in anderen Giften entdeckt worden. Analoga der Toxoidmodifikationen sind weiterhin auch bei zahlreichen anderen Stoffen, mit denen die Immunitätsforschung arbeitet (Komplemente, Fermente. Agglutinine, Präcipitine u. a.) nachgewiesen werden.

Die Toxoidhypothese entspricht durchaus der allgemeinen Betrachtungsweise Ehrlichs über Konstitution und Wirkung und stellt in diesem Sinne den Ausdruck einer scharfen Differenzierung zwischen distributiver und pharmakodynamischer (toxischer) Funktion dar, womit Ehrlich auch die Inkubationsperiode bei vielen Toxinen erklärt Tatsächlich haben schon die Untersuchungen von Dönitz[12]) die rasche Bindung der Toxine in vivo trotz eines längeren Zeitraums bis zum Ausbruch der Krankheitserscheinungen erwiesen (vgl. hierzu auch Morgenroth (l. c. [4])). Über das Wesen der Toxoidbildung hat Ehrlich keine bestimmten Vorstellungen als ausschließlich berechtigt bevorzugt. Im allgemeinen nimmt er[13])[14]) allerdings, ohne die Möglichkeit von Anlagerungen an den toxophoren Komplex auszuschließen, an, daß es sich für gewöhnlich um eine Zerstörung handelt. Aber es ist, wie Ehrlich[15]) selbst ausführt, „für das Wesen des Prozesses von keiner Bedeutung, ob Zerstörung oder Abspaltung des Komplexes, ob Anlagerung anderer Gruppen usw. vorliegt."

Ist die wesentliche Grundlage der Vorstellung Ehrlichs über die Toxinkonstitution die Differenzierung einer haptophoren und einer toxophoren Gruppe, so diskutiert Ehrlich (l. c. [15]) aber auch die Möglichkeit, daß der toxophore Komplex des Toxinmoleküls aus verschiedenen Komponenten besteht. Ehrlich bezieht sich hierbei besonders auf die Untersuchungen von Jacoby, welche die Annahme von 2 toxophoren Gruppen im Ricinmolekül wahrscheinlich gemacht haben, und hält ein entsprechendes Verhalten auch bei Bakterientoxinen für durchaus möglich. Er erblickt den Ausdruck für das Bestehen derartiger Verhältnisse insbesondere in Beobachtungen v. Behrings, nach welchen es Tetanusgiftmodifikationen gibt, in denen die tödliche Dosis erheblich verringert, die krankmachende Dosis fast unverändert geblieben ist. Nach Ehrlich kann man diese Erscheinung derart auffassen, daß die krankmachende und die den Tod bedingende toxophore Gruppe im Giftmolekül verschieden und bei

---

[12]) Deutsche med. Wochenschr., H. 27, **1897** [*334*], Arch. internat. de pharmacod. et de thérapie **V**, 425, **1899** [*336*].

[13]) Therapie der Gegenwart, N. F. III, 193, **1901** [*72*].

[14]) XIII. Congrès international de médecine, Paris **1900** [*68*].

[15]) University Record **IX**, 65, **1904** [*85*].

gewissen Giftmodifikationen nur die eine Gruppierung geschädigt, die andere erhalten ist, daß es sich also in einem solchen Falle um inkomplete Toxoide handelt. Auch erblickt Ehrlich hierin eine Erklärung dafür, daß Giftmodifikationen bei verschiedenen Tierarten sich in ungleichartiger Weise abgeschwächt erweisen können. Andere Beobachtungen, wie z. B. die Angaben v. Behrings und Tizzonis über verschiedenartige Tetanusgifte, welche in ihrer Toxizität bei Mäusen übereinstimmten, bei Kaninchen aber erheblich differierten, finden, wie Ehrlich (l. c. [16]) ausgeführt hat, in der Annahme einer Mehrzahl von Giftvarietäten, differenziert durch die Verschiedenheit des toxophoren Komplexes, eine befriedigende Erklärung.

Eine andere Deutung für die verwickelten Verhältnisse der Bindung zwischen Toxin und Antitoxin, die Ehrlich zu seiner wohlbegründeten Theorie der komplexen Beschaffenheit der meisten Toxine führten, haben Arrhenius und Madsen auf Grund von Versuchen gegeben, die sie zunächst am Tetanolysin und Tetanusserum machten. Zu einer stets gleichbleibenden Menge einer bestimmten Tetanolysinlösung setzten sie steigende Mengen Antitoxin und prüften die Toxizität dieser Mischungen durch Hinzufügen von roten Blutkörperchen. Das Verfahren entspricht also der von Ehrlich in die Toxinanalyse eingeführten Methode der partiellen Absättigung. Die Abnahme der Giftigkeit des Lysins bei steigendem Antitoxingehalt wird hier nur in einer Kurve ausgedrückt, die dadurch gewonnen wird, daß in einem Koordinatensystem die Abszisse die zugesetzten Antitoxinmengen, resp. Bindungseinheiten darstellt, die Ordinate die jeweilige Toxizität des Gemisches, die nach Zusatz der betreffenden Serummenge gefunden wurde. Prinzipiell haben beide Methoden der graphischen Darstellung die gleiche Berechtigung. Das Giftspektrum Ehrlichs stellt, wie Ehrlich und Sachs (l. c. [19]) ausgeführt haben, mathematisch ausgedrückt, die graphische Wiedergabe der Differentialquotienten für die von Arrhenius und Madsen gegebene Kurve dar. Die Ordinate des Giftspektrums (Toxin) bedeutet in diesem Sinne den Grad der jeweiligen Neigung der Absättigungskurve.

Die so gewonnene Kurve ähnelt einer zunächst stärker, schließlich immer schwächer abfallenden gebogenen Linie, welche niemals die Abszisse völlig erreicht, sondern sich ihr asymptotisch nähert. Die Autoren erklären dies dadurch, daß Toxin und Antitoxin ein so schwaches Bindungsvermögen haben, daß das Massenwirkungsgesetz (Guldberg-Waage) hier Anwendung finden muß. Dieses hat seine Gültigkeit, wenn Stoffe geringerer chemischer Verwandtschaft aufeinander wirken, z. B. Alkohol und Essigsäure, Ammoniak und Borsäure. Solche Reaktionen endigen nicht mit völligem Verbrauch einer der Komponenten, sondern sie sind unvollkommen, machen also schon an einem Punkte Halt, wo die beiden in Reaktion stehenden Körper

noch nicht aufgebraucht sind. Es stellt sich also zwischen beiden Körpern und ihrer Verbindung ein Gleichgewichtszustand her, bei dem alle drei Komponenten vorhanden sind. Die Ursache desselben ist, daß die beiden in Reaktion stehenden Substanzen nicht nur das Bestreben haben, sich zu vereinigen, sondern auch daß die entstehende Verbindung das Bestreben hat, zu zerfallen. Solche Reaktionen bezeichnet man als reversibel. Die Geschwindigkeit, mit der solche Reaktionen verlaufen, sind von der Konzentration der reagierenden Stoffe abhängig. Im Beginn der Reaktion wird zuerst eine größere Menge der Verbindung sich bilden und wenig zerfallen. Ist jedoch mehr entstanden, so wird die Bildung der komplexen Verbindung an Geschwindigkeit abnehmen und der Zerfall derselben an Geschwindigkeit zunehmen, so daß schließlich eine Art von Gleichgewichtszustand sich einstellt. Das Gesetz, welches über die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Konzentration der reagierenden Stoffe sowie von der Einstellung jenes Gleichgewichtszustandes handelt, heißt das Guldberg-Waagesche Massenwirkungsgesetz. Auf die Toxin-Antitoxinverbindung übertragen, würde sich der in einem Gemisch erreichte Endzustand nach den Untersuchungen von Arrhenius ganz allgemein durch folgende Formeln definieren lassen: (Konzentration des Toxins) $\times$ (Konz. des Antitoxins) = k (Konz. der Toxin-Antitoxinverbindungen)$^n$, wobei der Wert n von Arrhenius und Madsen meist = 2 gefunden worden ist (so z. B. beim Tetanolysin — Antilysin, beim Diphtherietoxin — Antitoxin).

Dieses Gesetz ist, wie gesagt, nur anwendbar bei Reaktionen, die auch umgekehrt verlaufen können, d. h. reversibel sind, bei denen also die fertige Verbindung unter irgendwelchen Bedingungen auch die rückwertige Reaktion eingehen und sich wiederum in ihre Komponenten spalten kann.

Arrhenius und Madsen ist es nun aufgefallen, daß ihre in der oben erwähnten Weise gezeichneten Kurven, d. h. die Verbindungslinien der nach ihrem System eingetragenen Beobachtungspunkte eine gewisse Ähnlichkeit mit Kurven aufweisen, wie sie bei Absättigung schwacher Basen durch schwache Säuren (z. B. Ammoniak und Borsäure) gewonnen werden.

Dieser Auffassung, die von einem einheitlichen Toxin ausgeht, das, mit nur schwacher Affinität zum Antitoxin begabt, sich mit diesem zu einer reversiblen Verbindung vereinigt, steht nun, wie Ehrlich[16] [17] [18] [19] (l. c. [15]) ausgeführt hat, zunächst die Prototoxoidzone, die sich mit großer Deutlichkeit bei manchen Giften (Diphtherietoxin, Ricin) findet, in unlösbarem Widerspruch. Denn nach dieser Theorie müßte gerade der anfängliche Zusatz des Antikörpers den größten Entgiftungseffekt ausüben.

Zufolge des oben erwähnten asymptotischen Verlaufes der Absättigungskurve von Arrhenius und Madsen hat das Giftgemisch auch bei

[16]) Münch. med. Wochenschr., H. 33/34, **1903** [*81*].
[17]) Berl. klin. Wochenschr., H. 35/37, **1903** [*80*].
[18]) Ebenda, H. 9, **1904** [*84*].
[19]) Vgl. Ehrlich und Sachs, Leipzig (Fock), **1905** [*207*].

maximalem Zusatz des Antikörpers seine Giftigkeit niemals völlig verloren. Diesen minimalen Giftmengen schreiben diese Autoren diejenige Wirkung zu, die Ehrlich auf das Vorhandensein besonderer Stoffe, der Toxone, bezog. Ich habe oben schon auseinandergesetzt, daß Bruchteile der letalen Dosis des Diphtheriegiftes fast niemals den Effekt wie die Injektion des Toxons erzielen. Dies hat Ehrlich schon mit großer Bestimmtheit betont. Morgenroth[20]) [21]) hat durch sorgfältige Versuche gezeigt, daß auch mit Zuhilfenahme einer weiteren Hypothese Madsens die eigentümliche Toxonwirkung nicht durch die Resorption sehr kleiner Mengen ungebundenen Toxins erklärt werden kann. Madsen nahm an, daß bei Injektion der Gemische von Toxin und Antitoxin durch die Gegenwart des Antitoxins die Fixation des Toxins am Orte gehindert und das Ausbleiben einer erheblichen lokalen Reaktion erklärt wird, so daß der geringe Überschuß von resorbiertem Toxin Lähmungen hervorbringt.

Das **primäre** Vorhandensein des Toxons als eines besonderen Sekretionsproduktes des Diphtheriebacillus, beweist auch die Tatsache, daß die Größe der Toxonzone außerordentlich verschieden ist. Bei einem von Ehrlich untersuchten Gift war sie nahezu = 0, während sonst bei den meisten Giften eine lange Zone unvollständiger Absättigung (Toxonteil) besteht.

Gegen eine schwache Affinität des Toxins zum Antitoxin spricht ferner, wie Ehrlich hervorhebt, die Beobachtung, daß in gewissen Teilen der Absättigungskurve die Verbindung genau so erfolgt, wie die einer starken Base durch eine starke Säure, wo also der Verlauf durch eine gerade Linie dargestellt werden muß. Es sind das jene, bei manchem Diphtheriegift gefundene Stellen des Spektrums (vgl. oben Gift Nr. II, Deuterotoxinzone), wo durch Verminderung um eine Bindungseinheit stets eine dos. let. frei wird.

Handelt es sich um ein wirklich einheitliches Gift, so verläuft die Absättigungskurve (gezeichnet nach Arrhenius und Madsen) in der Tat in der Form einer geraden Linie, wie es bei irreversiblen Verbindungen zweier Körper mit starker chemischer Avidität verlangt wird. Ein solch reines Gift stellt die hämolytische Quote des Kobragiftes dar, die durch Lezithin zur Wirkung gebracht wird. Kyes[22]) hat nämlich im Laboratorium Ehrlichs die Bindungsgesetze des Kobragiftes derart studiert, daß er zu einer gegebenen Menge Kobragiftes geeignete Mengen Antikobraserum hinzusetzte. Er bestimmte die Abnahme der hämolytischen Kraft unter Verwendung von Blutkörperchen und einem großen Lezithin-

[20]) Berl. klin. Wochenschr., H. 20, **1904** [*454*].
[21]) Zeitschr. f. Hyg. **XLVIII**, 177, **1904** [*455*].
[22]) Berl. klin. Wochenschr., H. 19, **1904** [*400*].

überschuß. Die nach Arrhenius und Madsen konstruierte Absättigungskurve zeigte die geforderte Form der geraden Linie auf das genaueste, indem dieselbe Menge Serum stets die gleiche Menge Kobragift unwirksam machte. Daraus folgt, daß die Avidität des Kobragiftes zum Antitoxin so groß ist, daß die entstehende Verbindung nicht dissoziiert wird.

Abgesehen von prinzipiellen Bedenken, die besonders Nernst gegen die von Arrhenius und Madsen aufgestellten Formeln geltend gemacht hat (vgl. hierzu auch Ehrlich[23]), sprechen besonders noch die Erscheinungen, die bei dem oben genauer dargestellten Danysz-v. Dungernschen Phänomen auftreten, gegen die Möglichkeit, das Guldberg-Waagesche Massengesetz auf die Toxin-Antitoxinverbindung anzuwenden. Arrhenius und Madsen haben nicht experimentell die Reversibilität dieser Bindungen erwiesen, sondern umgekehrt nur aus der Form der von ihnen gewonnenen Kurven auf die Reversibilität geschlossen. Die von v. Dungern (l. c. [6]) beim Diphtheriegift, von Sachs (l. c. [9], [10]) beim Tetanolysin und anderen Toxinen gefundene Tatsache, daß das Endgemisch erheblich giftiger ist, wenn zu derselben Menge Antitoxin das Toxin in zeitlich getrennten Fraktionen hinzugefügt, als wenn es auf einmal beigemengt wird, spricht durchaus für die Irreversibilität der entstandenen Verbindung. Handelte es sich nämlich wirklich um eine vollkommene Reversibilität zwischen einheitlichen Substanzen, wie es Arrhenius und Madsen voraussetzen, so war zu fordern, daß sich bei gleichen Gesamtmengen der reagierenden Substanzen stets dasselbe Gleichgewicht einstellt, d. h. die Giftigkeit der Endgemische in allen Fällen dieselbe bleibt. Dieses Phänomen der Toxizitätserhöhung durch fraktionierten Giftzusatz ist aber, wie wir oben gesehen haben, in allen bisher untersuchten Fällen (Diphtheriegift, Tetanolysin, Rizin, Staphylolysin, Arachnolysin, Lab und Präzipithin) gefunden worden. Eine einzige Ausnahme bildet nur, wie Sachs gezeigt hat, das Kobragift, und das steht in vollkommener Übereinstimmung mit der von Kyes (l. c. [22]) erwiesenen Tatsache, daß die Absättigungskurve in diesem Falle dank der starken Avidität und einheitlichen Konstitution des Kobrahämolysins eine gerade Linie ist.

Manche Tatsachen deuten darauf hin, daß die im Beginn lockere und dissoziierbare Toxin-Antitoxinverbindung eine sekundäre Festigung erfährt, welche die anfangs etwa vorhandene Reversibilität aufhebt (vgl. hierzu auch Otto und Sachs[24]). Hierdurch wird eine Reihe von Erscheinungen erklärt, für die anfangs eine befriedigende Deutung nicht gefunden werden konnte. So hatten Dreyer und Madsen beobachtet,

---

[23]) Zeitschr. f. Elektrochemie, X. Jahrgang, Nr. 35, **1904** [*86*].

[24]) Zeitschr. f. exp. Path. u. Ther. **III**, 19, **1906** [*502*].

daß $L_0$-Gemische von Diphtherietoxin und Antitoxin, die für Meerschweinchen indifferent waren, Kaninchen schnell töteten. Danach wäre der Meerschweinchenversuch, welcher in den Arbeiten Ehrlichs ausschließlich zur Bestimmung der gesamten Komponenten des Diphtheriegiftes gebraucht war, nicht maßgebend, da die Benutzung des Kaninchens als Versuchstier ganz abweichende Resultate ergab. Ehrlich hatte dies zunächst (l. c. [16], [17]) so erklärt, daß die in dem $L_0$-Gemisch enthaltenen Toxonoide beim Meerschweinchen nicht krankmachend wirken, während sie Kaninchen schwer zu schädigen, ja zu töten imstande sind. Morgenroth (l. c. [2], [21]) zeigte dann, daß die von Dreyer und Madsen geschilderten Tatsachen nicht in einem prinzipiell verschiedenen Verhalten der beiden Tierarten den Giftkomponenten gegenüber ihre Ursache haben, sondern daß dieser Unterschied in einer verschiedenen Injektionsart begründet ist. — Dreyer und Madsen haben nämlich ihre Gemische den Meerschweinchen subkutan, den Kaninchen dagegen intravenös gegeben. Wendet man aber, wie es Morgenroth getan hat, den gleichen Injektionsmodus auch bei Meerschweinchen an, so verschwinden die Differenzen. Bei intrakardialer Injektion zeigt ein Gemisch, welches nach dem Resultat der subkutanen Einspritzung nur freies Toxon enthalten sollte, auch bei Meerschweinchen die akute Wirkung freien Toxins. Wenn man andererseits ein 24 Stunden altes $L_0$-Gemisch dem Kaninchen intravenös injiziert, so erwies es sich nicht mehr als giftig. Man muß also die zeitlichen Verhältnisse der Einwirkung von Toxin und Antitoxin in Betracht ziehen, Während es bei der subkutanen Methode gleichgültig ist, ob das Antitoxin längere Zeit auf das Toxin eingewirkt hat, so zeigt sich bei intravenöser Injektion ein Gemisch noch giftig, welches nach längerem Stehen ungiftig ist. Es muß also inzwischen eine sekundäre Festigung der Toxin-Antitoxinverbindung eingetreten sein. Bei den subkutanen Versuchen ist diese Langsamkeit der Bindung früher den Beobachtern entgangen, weil gerade im subkutanen Gewebe, vielleicht durch irgendwelche katalytische Einflüsse, die völlige Bindung außerordentlich viel schneller von statten geht, als im Reagenzglas oder in der Blutbahn.

Für die Tatsache, daß die Toxin-Antitoxinverbindung anfangs locker, später irreversibel ist, sprechen auch die Versuche von Wassermann und Bruck. Wird ein für normale Tiere neutrales Toxin-Antitoxingemisch in die Hinterpfote eines Meerschweinchens injiziert, an der mittels Adrenalins eine lokale Anämie verursacht worden ist, so erkrankt das Tier am Tetanus, weil für das anfangs nur locker gebundene Toxin die Resorptionsbahn, (nach Meyer und Ransom) der Weg durch die Nerven, frei ist, während das Antitoxin die seinige (Blutbahn) verlegt findet. Wird aber das Gemisch zwei Stunden nach der Anfertigung in gleicher Weise injiziert, so erweist es sich als ungiftig, weil inzwischen die Verbindung des Toxins mit dem Antitoxin irreversibel geworden ist.

Ehrlich hat darauf aufmerksam gemacht, daß auch der Versuch von Madsen und Walbum, die die Dissoziierbarkeit der Toxin-Antitoxinverbindung dadurch demonstrieren, daß das Gift schneller gegen Gelatine diffundiert, als das Antitoxin, so daß man durch Diffusion eines Diphtherie-Antitoxingemisches in Gelatine freies Toxin erhalten kann, nicht beweisend für die Reversibilität der endgültig entstehenden Verbindung ist. Denn in Übereinstimmung mit den eben angeführten Experimenten gelingt dieser Versuch nur dann, wenn man ein frisches Gemisch benutzt.

Wir sehen also, daß die Grundlage für die Arrhenius-Madsensche Theorie, die leichte Dissoziierbarkeit (Reversibilität) der Toxin-Antitoxinverbindung, nach dem vorliegenden Tatsachenmaterial nicht zutrifft.

Auch die Theorie von Bordet, nach welcher das Toxinmolekül Antitoxin in variablen Proportionen binden könnte, ist, wie Ehrlich (l. c. [17], cf. auch Sachs[25]) darlegt, abgesehen davon, daß sie zu außerordentlich komplizierten Vorstellungen führt, nicht imstande, alle beobachteten Tatsachen befriedigend zu erklären. Speziell ist es nicht möglich, mit ihrer Hilfe eine Deutung der mannigfachen Veränderungen zu geben, die die Gifte im Laufe der Zeit beim Lagern erleiden; ebensowenig erklärt sie die außerordentlich verschiedene Ausdehnung der Toxonzone bei verschiedenen Giften und die qualitativ differente Wirkung des Toxins und Toxons.

Die Bestrebungen, die Toxin-Antitoxinreaktionen vom kolloidchemischen Standpunkt aus zu betrachten und als Adsorptionserscheinungen aufzufassen, können schon wegen der Spezifität des Vorgangs nicht befriedigen. Ehrlich[26]) hat mehrfach darauf hingewiesen, daß auch die kolloidale Natur keineswegs die Reaktion spezifischer chemischer Atomgruppierungen ausschließen läßt, wie denn überhaupt die strukturchemische Betrachtungsweise Ehrlichs das Verständnis der Antikörperreaktionen und ihrer Spezifität auf das Beste ermöglicht.*)

Im Beginn der Auseinandersetzungen habe ich ausgeführt, daß die chemische Erforschung bisher nicht imstande war, uns auch nur die geringste Aufklärung über die Konstitution der Toxine zu geben. Die große, hierauf verwandte Mühe steht in keinem Einklang zu den erbrachten

---

*) Einige Versuche zur Frage der elektrischen Ladung von Toxin und Antitoxin sind aus dem Ehrlichschen Institut von Bechhold[27]) mitgeteilt worden.

[25]) Centralbl. f. Bakt. **XXXVII**, 398, **1904** [*545*].

[26]) Beitr. z. exp. Pathol. u. Chemotherapie, S. 3, Leipzig 1909, cf. auch The Harben lectures for 1907, London 1908 [*99*].

[27]) Münch. med. Wochenschr., H. 39, **1907** [*257*].

Resultaten. Erst die biologische Methode Ehrlichs hat uns zunächst beim Diphtherietoxin einen Einblick in die Zusammensetzung durch die Erkenntnis der Pluralität der Giftkomponenten und durch die Möglichkeit, dieselben zu sondern, gewährt; sie hat weiterhin anregend und befruchtend auf das Studium der Konstitution vieler anderer Toxine gewirkt.

Tatsächlich ist ja die pluralistische Betrachtungsweise Ehrlichs in vielen Fällen auf direktem Wege, ja sogar durch räumliche Trennung verschiedener Giftkomponenten erwiesen worden. So ist im Tetanusgift Tetanolysin und Tetanospasmin ohne weiteres zu unterscheiden, und in den Schlangengiften sind eine große Reihe markant differenzierbarer Komponenten aufgedeckt worden. Und daß die Bakterienzelle nur einen einheitlichen Giftstoff produzieren sollte, erscheint schon a priori, wie Ehrlich (l. c. [13]) ausführt, sehr unwahrscheinlich, „wenn wir überlegen, welche Reihe von Stoffen eine einzelne Zelle produziert, wenn wir bedenken, daß in den Rindenzellen des Chinabaums allein ca. 20 verschiedene Alkaloide, wie Chinin, Cinchonin, Cinchonidin usw. sich finden, wenn wir die analogen Erfahrungen aus der Alkaloidchemie uns zurückrufen". Von wie hohem aufklärendem und heuristischem Werte sich das pluralistische Prinzip Ehrlichs auf allen anderen Gebieten der Immunitätsreaktionen erwiesen hat, darauf sei hier nur hingewiesen; das Studium der antizellulären Antikörper, der Rezeptoren und Ambozeptoren hat insbesondere den Erfolg der zunächst der Analyse der Toxinkonstitution dienenden pluralistischen Betrachtungsweise gezeigt.

7.

# Hämotoxine bakteriellen Ursprungs.

Von

**Paul Th. Müller,**

Graz.

Nachdem bereits R. Koch und später van de Velde auf die Fähigkeit mancher pathogenen Bakterien, rote Blutkörperchen zu zerstören, hingewiesen hatte, ist es Ehrlich[1]) gelungen, in den Kulturen des Tetanusbazillus ein hämolytisches Toxin nachzuweisen, das sich zu wichtigen Reagenzglasversuchen besonders geeignet zeigte. Dieses „Tetanolysin" ist keineswegs identisch mit dem krämpfeerzeugenden Tetanusgift, dem Tetanospasmin, sondern unterscheidet sich von ihm, wie Ehrlich gefunden hat, durch eine Reihe wichtiger Merkmale. Zunächst gehen die beiden Giftwirkungen in den verschiedenen Giftpräparaten — Ammonsulfatfällungen der Tetanusbouillonkulturen — keineswegs miteinander parallel; vielmehr gibt es Gifte, die eine stark tetanisierende und eine schwache hämolytische Wirkung besitzen, während andere Gifte sich gerade umgekehrt verhalten. Auch die Haltbarkeit der beiden Gifte ist eine sehr verschiedene, indem sich die hämolytische Funktion eines Präparates viel rascher abschwächt, als die tetanisierende, sei es nun, daß dasselbe der spontanen Zersetzung oder der künstlichen Einwirkung besonderer, z. B. thermischer Schädlichkeiten unterworfen wird. Wichtig ist ferner, daß beide Gifte ganz verschiedene Bindungsverhältnisse aufweisen, indem nur das Tetanolysin von den roten Blutkörperchen adsorbiert wird, das Tetanospasmin dagegen unter diesen Umständen in Lösung bleibt. Diesen Differenzen entspricht nun auch die Tatsache, daß beiden Giften auch ein besonderes Antitoxin zukommt, und daß daher auch die giftneutralisierenden Wirkungen der Immunsera ihnen

[1]) Berl. klin. Wochenschr., H. 12, S. 273, **1898** [*63*].

gegenüber nicht parallel zu gehen brauchen. So fand Ehrlich, daß ein Serum, das starke krampfwidrige Eigenschaften aufwies, fast gar nicht antilytisch wirkte.

Damit hatte Ehrlich also den sicheren Nachweis erbracht, daß Tetanolysin und Tetanospasmin zwei verschiedenartige Gifte darstellen, und hatte zugleich auch die Möglichkeit erschlossen, eine Reihe wichtiger Fragen, deren Bearbeitung bei anderen Toxinen, wie beim Diphtheriegift, viele mühevolle und kostspielige Tierversuche erfordert hatte, in relativ einfacher Weise im Reagensglasversuche zu lösen.

Thorvald Madsen[2]), einem Schüler Ehrlichs, verdanken wir außerordentlich wichtige und grundlegende Untersuchungen über das Tetanolysin und seine Wirkungen auf die roten Blutkörperchen, die im Ehrlichschen Institut durchgeführt wurden. Dieser Forscher konnte sich zunächst davon überzeugen, daß die roten Blutkörperchen einer Blutprobe in ihrem Verhalten gegenüber dem Tetanolysin keineswegs durchaus einheitlich erscheinen, sondern daß man sie in 3 Gruppen einteilen muß: in solche von hoher, von mittlerer und von geringer Resistenz; letztere werden bereits von Giftmengen geschädigt, die die resistenteren Erythrocyten noch vollkommen unbeeinflußt lassen. Für die Beurteilung des Effektes der Toxinlösungen fand es nun Madsen zweckmäßig, eine Bestimmungsmethode zu benutzen, die auf der großen Anzahl der Blutkörperchen von mittlerer Empfindlichkeit fußt und wählte hierzu ein kolorimetrisches Verfahren, das festzustellen gestattet, wann der dritte oder der sechste Teil der Erythrocyten der Auflösung verfallen ist. — Hierbei fand sich nun, daß die Wirkung des Tetanolysins in hervorragendem Maße von der Temperatur abhängig ist, bei welcher sich die Blutprobe befindet. Vergleicht man nämlich nach Madsen die hämolytische Wirkung des Giftes, die in einer Stunde, bei 37° C erzielt wird, mit derjenigen, die bei 0—1° C in 24 Stunden zustande kommt, so braucht man im letzteren Falle ungefähr 100 mal soviel Gift, um den gleichen Grad der Blutlösung hervorzurufen. Dabei ist aber nicht nur die absolute Wirkung für sich allein durch die niedere Temperatur bedeutend herabgesetzt, sondern es wird auch deren Latenzzeit beträchtlich verlängert.

Seht interessant waren nun die Neutralisationsverhältnisse, die sich bei der stufenweisen Einwirkung von Toxin und Antitoxin ergaben, und die große Analogien zu den von Ehrlich beim Diphtherietoxin gefundenen Gesetzmäßigkeiten aufwiesen. Wie beim Diphtheriegift, so ließen sich auch beim Tetanolysin bei partieller Sättigung Resultate erzielen, die auf die Anwesenheit verschiedener Giftfraktionen hinzudeuten

[2]) Zeitschr. f. Hyg., **XXXII**, 214, **1899** [*414*].

schienen. Teilt man nämlich das Gift in zwei Hälften, so kann man nach den Ausführungen Madsens zwei fundamental verschiedene Teile unterscheiden.

Der erste Teil besteht aus Prototoxin, Deuterotoxin und Tritotoxin. Das Prototoxin machte etwa den 13. Teil des von Madsen untersuchten Giftes aus und war der Träger der Hälfte der gesamten Lösungsfähigkeit. Es verminderte seine Giftigkeit außerordentlich leicht und ging, bei erhaltener Bindungsfähigkeit, in ein Prototoxoid über. Das Deuterotoxin bildete etwa den 9. Teil des Giftes, und ihm kam etwa $^2/_5$ der totalen Giftwirkung zu. Wie das Deuterotoxin des Diphtheriegiftes, zeigte es verhältnismäßig große Resistenz gegenüber äußeren Einwirkungen.

Das Tritotoxin endlich, etwa $^1/_4$ des Giftes, war nur von sehr geringer Wirksamkeit, die etwa den 10. Teil der Totalwirkung des Giftes darstellte. Im Gegensatz zum Proto- und Deuterotoxin, das sowohl bei hoher wie bei niedriger Temperatur zu wirken vermochte, war das Tritotoxin bei Temperaturen unter $10^0$ überhaupt unwirksam. — Die zweite Hälfte des Giftes besaß eine überaus geringe Giftigkeit und erinnerte in ihrem Verhalten an die entsprechende Komponente des frischen Diphtheriegiftes, weshalb Madsen für sie den Namen Toxon wählte.

Als wichtigstes Ergebnis seiner Untersuchungen sieht der genannte Forscher die Erkenntnis an, daß beim Tetanolysin ebenso wie beim Diphtheriegift das Vorhandensein zweier funktionell verschiedener Gruppen angenommen werden muß: einer haptophoren, antitoxinbindenden, und einer toxophoren Gruppe, die als Träger der hämolytischen Fähigkeit des Giftes anzusehen ist, aber außerordentlich leicht modifiziert oder zerstört werden kann, so daß Komplexe mit erhaltener Bindungsfähigkeit, Toxoide, entstehen. Bei diesen Versuchen zeigte sich recht deutlich, welcher methodische Fortschritt mit den von Ehrlich inaugurierten Reagenzglasversuchen auf diesem Gebiete gegeben war; denn diese ermöglichen es, beliebig viele Versuche gleichzeitig auszuführen und alle Experimente auf Kontrollversuche zu beziehen, die unter ganz gleichen Bedingungen und mit einem Versuchsobjekte von jeweils absolut gleichartiger Empfindlichkeit angestellt sind, ein Vorteil, der gerade bei Giften, die so labil sind wie das Tetanusgift, deshalb von unschätzbarem Werte sein muß, weil hier die volle Gewähr geboten ist, daß nicht unkontrollierbare Abschwächungen und Veränderungen des Giftes die Versuchsresultate zu trüben vermögen.

Nicht weniger kommt dieser Vorteil bei den anschließenden Studien Madsens[3]) über die Heilwirkung im Reagenzglas zur Geltung.

[3]) Zeitschr. f. Hyg., **XXXII**, 239, **1899** [*415*].

Wie Dönitz[4])[5]) gleichfalls in Ehrlichs Institut wahrscheinlich gemacht hatte, wird in die Blutbahn eingeführtes Toxin — speziell Tetanospasmin und Diphtheriegift — außerordentlich rasch von den Nervenzellen und anderen Gewebselementen gebunden, so daß es nur innerhalb gewisser Grenzen möglich ist, bereits verankertes Toxin durch Antitoxin wieder aus den Zellen freizumachen. Da diese Anschauungen natürlich rein hypothetisch bleiben mußten, solange es nicht möglich war, mit den isolierten, lebenden Nervenzellen zu experimentieren, so erschien es wünschenswert, das Heilproblem in der denkbar einfachsten Form an roten Blutkörperchen zu studieren, die ja wegen ihrer Fähigkeit, getrennt vom Organismus in physiologischer Kochsalzlösung weiterzuleben, ein außerordentlich bequemes Versuchsobjekt darstellen mußten. Wie der Organismus nach Einführung eines Giftes erkrankt, so zeigen auch die Erythrocyten nach Einwirkung einer hämolytischen Substanz, z. B. des Tetanolysins, Krankheitserscheinungen, die zum Austritt des Hämoglobins und damit zum Zelltode führen.

Es mußte daher die Frage aufgeworfen werden, ob es möglich ist, das an die roten Blutkörperchen bereits gebundene Tetanolysin durch Antilysin zu extrahieren und so unschädlich zu machen. Bei der gewählten Versuchsanordnung und der kolorimetrischen Schätzung des durch das Gift bereits angerichteten Schadens war es möglich, hier mit Sicherheit zu bestimmen, ob bereits eine toxische Wirkung eingetreten war, und zugleich festzustellen, wieviel Gift zu der betreffenden Zeit an die roten Blutkörperchen gebunden war, und somit also auch zu analysieren, worin die Wirkung des Antitoxinzusatzes bestand.

Das Ergebnis dieser Versuche war nun ein recht interessantes. Es zeigte sich nämlich, daß es binnen den ersten 15 Minuten, solange noch keine Lösung der roten Blutkörperchen stattgefunden hatte, möglich war, durch Antitoxinzusatz jede toxische Wirkung zu verhindern, und zwar, obwohl, wie die Kontrollversuche zeigten, bedeutende Mengen des Giftes bereits an die roten Blutkörperchen gebunden waren. Aber auch, wenn die Lösung nach 30 Minuten angefangen, und selbst wenn sie 1—2 Stunden nach dem Giftzusatz weit fortgeschritten war, war man nach den Versuchen von Madsen noch imstande, der weiteren Lösung Einhalt zu tun, so daß die definitive, 24 Stunden später wahrzunehmende Farbnuance nicht stärker war, als die im Kontrollglas gefundene. Dabei zeigte sich jedoch, daß zur Heilung der vergifteten Blutzellen immer größere Antitoxinmengen erforderlich wurden, je längere Zeit nach der Vergiftung verflossen war. So war es, um dieselbe Heilwirkung zu erzielen, nötig,

[4]) Deutsche med. Wochenschr., H. 27, **1897** [*334*].

[5]) Arch. internat. de pharmacodynamie, V, 425, **1899** [*336*].

nach 5 Minuten ungefähr das Doppelte, nach 15 Minuten das Dreifache und nach 30 Minuten das Fünffache derjenigen Antitoxinmenge hinzuzufügen, welche bei sofortigem Zusatz hinreichend war, ein Befund, der vollkommen mit den experimentellen Erfahrungen übereinstimmt, die Dönitz bei seinen Tierversuchen machen konnte.

Madsen schließt aus diesen schönen Experimenten, daß es möglich ist, durch Antitoxin das schon an die roten Blutkörperchen gebundene Tetanolysin diesen Zellen wieder zu entreißen und unschädlich zu machen. Dies war nicht allein möglich, bevor jede toxische Wirkung eingetreten war, sondern man konnte in jeder Phase der Blutlösung das Weiterschreiten des Prozesses verhindern; mit anderen Worten: solange ein tetanolysinvergiftetes rotes Blutkörperchen lebend, d. h. nicht gelöst ist, ist eine vollständige Heilung durch Antitoxin noch möglich.

Die Untersuchungen, die M. Neißer und Wechsberg[6]) im Ehrlichschen Institut über ein anderes Bakterienhämolysin, nämlich über das Staphylotoxin, das Gift des Staphylococcus aureus, angestellt haben, bilden eine wertvolle Ergänzung und Erweiterung der beiden besprochenen Hämolysinstudien. Da die beiden Forscher nur sehr spärliche Vorarbeiten auf diesem Gebiete vorfanden, so mußten sie, ehe an eine systematische Untersuchung verschiedener Staphylokokkenfiltrate gegangen werden konnte, zunächst einige Vorfragen erledigen, indem sie sich vor allem über die optimalen Bedingungen der Giftbildung orientieren mußten. Hierbei stellte sich heraus, daß der Alkaleszenzgrad der zur Kultur der Staphylokokken benutzten Nährbouillon von großer Bedeutung für die Produktion des Hämolysins ist, daß sie hingegen für die Wirkung des bereits gebildeten Toxins ziemlich nebensächlich ist. Denn man konnte einem fertigen Hämolysin innerhalb ziemlich weiter Grenzen Säure oder Alkali zusetzen, ohne den hämolytischen Effekt der Giftlösung wesentlich zu beeinflussen.

Eine weitere wichtige Vorfrage, die erledigt werden mußte, ehe das Staphylolysin einer näheren Untersuchung unterzogen werden konnte, war die nach der geeignetsten Blutart. Es zeigte sich bei diesen Versuchen, bei denen, um die eventuelle Schutzwirkung des Serums auszuschalten, nur gewaschene rote Blutkörperhen verwendet wurden, daß am empfindlichsten gegen die Wirkung des Staphylokokkengiftes Kaninchenerythrozyten, nach ihnen Hammelerythrozyten waren, während die anderen Blutarten (Gans, Hund, Ziege, Schwein, Meerschweinchen, Mensch, Pferd) weit größere Toxinmengen zu ihrer Auflösung bedurften. Unterschiede zwischen den Blutkörperchen verschiedener Kaninchen waren

[6]) Zeitschr. f. Hyg., **XXXVI**, 299, **1901** [*489*].

jedoch nicht zu erkennen, wenn auch hier, analog den bereits besprochenen Befunden Madsens, die verschiedenen Erythrocyten eines Tieres ungleiche Empfindlichkeit gegenüber dem Staphylolysin aufwiesen.

Bei dem näheren Studium der Hämolysinproduktion durch die Staphylokokken zeigte sich nun, daß das Gift bereits am 4. Tage nach der Beimpfung der Nährbouillon in den Kulturfiltraten nachweisbar wird, und daß sich dessen Menge von da ab bis zum Ende der 2. Woche steigert, dann aber nicht mehr zunimmt, sondern sich vielmehr zu vermindern pflegt. Der Höhepunkt des Hämolysingehaltes lag im allgemeinen zwischen dem 10. und 14. Tage. Es stellte sich jedoch heraus, daß die einzelnen Staphylokokkenstämme sehr in der Menge des erzeugten Hämolysins voneinander abwichen. Eine direkte Beziehung der Hämolysinproduktion zur Virulenz für Mensch oder Tier schien nicht zu bestehen; wohl aber war es gelegentlich möglich, die Hämolysinbildung eines Stammes durch fortgesetzte Tierpassagen beträchtlich zu steigern. Das keimfreie, mit Karbol versetzte Staphylotoxin ließ sich im Eisschrank wochen- und monatelang konservieren, ohne wesentlich an Wirksamkeit einzubüßen. Im Brutschrank dagegen nahm das Hämolysin rasch ab und war manchmal schon nach 2 Wochen wieder völlig verschwunden. Durch Hitze ist das Staphylolysin ähnlich wie andere Bakterientoxine, leicht zu inaktivieren, indem es schon bei 48° geschädigt und bei 56° binnen 20 Minuten vollkommen zerstört wird.

Da sich das Hämolysin bei allen Aureusstämmen vorfand, die aus menschlichen Eiterungen, aus Ekzemen, aus gesunder oder erkrankter Mundhöhle isoliert worden waren, so sind Neißer und Wechsberg der Anschauung, daß dasselbe ein konstantes Merkmal des typischen Staphylococcus aureus sei. Verschiedene aus Eiter gezüchtete Albusstämme bildeten ebenfalls Hämolysin. Dagegen zeigten Albusstämme, die von der Haut isoliert worden waren, keine Spur von Hämolysinproduktion, so daß also neben den pyogenen Arten sowohl Aureus- wie besonders Albusstämme vorzukommen scheinen, die sich häufig schon kulturell, sicher aber durch den dauernden Mangel jeglicher Hämotoxinbildung von den typischen pyogenen Stämmen unterscheiden.

Schon manche normale Sera enthalten nun Stoffe, welche imstande sind, die deletäre Wirkung des Staphylolysins aufzuheben. Besonders reich an solchem natürlichen Antistaphylolysin erwies sich das normale Pferdeserum. Aber auch im Menschenserum findet sich, wie Neißer wiederholt hervorgehoben hat[7][8]), konstant ein Antikörper gegenüber der blutlösenden Wirkung des Staphylotoxins, der jedoch bei den natür-

[7]) Wiener med. Wochenschr., H. 48/49, **1900** [*465*].
[8]) Deutsche med. Wochenschr., H. 49, **1900** [*466*].

lichen hämolytischen Fähigkeiten des Serums erst nach dessen Inaktivierung deutlich zutage tritt. Ob dieses — übrigens in sehr schwankenden Mengenverhältnissen auftretende — Antilysin immer durch die Einwirkung der Staphylokokken auf den menschlichen Organismus hervorgerufen wird, oder ob es sich hierbei um Normalantitoxine handelt, mußten Neißer und Wechsberg unentschieden lassen. Jedenfalls ist es nach ihrer Auffassung zu erwarten, daß bestehende oder überstandene Staphylokokkenprozesse eingreifenderer Natur in dem Antitoxingehalt des Blutes zu irgendeinem Ausdruck kommen werden, wie auch durch neuere Arbeiten bestätigt ist.

Was nun die Immunantilysine betrifft, so konnten die beiden Forscher zunächst mit Hilfe derselben den Nachweis erbringen, daß offenbar die von den verschiedenen Aureusstämmen erzeugten Hämolysine einheitlicher Natur sind; denn ein mit einem bestimmten Toxin erzeugtes Immunserum war imstande, gegen alle Staphylokokkenlysine in gleicher Weise zu schützen. Dagegen gelang es nicht, mit inaktiviertem Staphylolysin Antikörper hervorzurufen.

Interessanter noch sind jedoch die Versuche Neißers und Wechsbergs, die Konstitution des Staphylokokkenhämolysins, soweit dies mit Hilfe der biologischen Analyse gelingt, aufzuklären. Daß dasselbe nicht, wie etwa die Hämolysine der Tiersera, komplexer Natur sein kann, war leicht zu zeigen, übrigens auch schon durch den Mißerfolg der Immunisierungsversuche mit inaktiviertem Staphylolysin wahrscheinlich gemacht. Dagegen konnte, wie bei dem Tetanolysin, auch hier die Existenz verschiedener „Gruppen", einer haptophoren und einer toxophoren, nachgewiesen werden, indem sich zeigen ließ, daß Kaninchenerythrocyten bei 0° zwar imstande sind, Staphylolysin zu binden, ohne jedoch bei dieser Temperatur der Hämolyse zu unterliegen, während bei 37° sofort Lösung eintritt, weil eben bei dieser Temperatur die toxophore Gruppe zur Wirkung gelange.

Wurde nun der Versuch gemacht, durch partielle Absättigung des Staphylolysins mit dem Antitoxin einen Einblick in den Aufbau dieses Giftes zu gewinnen, so ließ sich erkennen, daß auch hier im Prinzip ähnliche Verhältnisse bestehen, wie beim Diphtheriegift und beim Tetanustoxin. So war z. B. nach Zusatz eines Fünfzigstels der zur Neutralisierung erforderlichen Antitoxinmenge nicht nur $^1/_{50}$ der lösenden Toxinmenge verschwunden, sondern bedeutend mehr; wurde aber ein zweites und selbst noch ein drittes Fünfzigstel hinzugefügt, so war keine weitere Verringerung der lösenden Kraft zu bemerken, die erst wieder eintrat, wenn ein weiteres Fünfzigstel zugesetzt wurde. Auch das Staphylolysin stellte sich nach der Analyse als ein Gemisch von Giften verschiedener Avidität, von Proto-,

Deutero- und Tritotoxinen dar. Ebenso zeigten diese Partialgifte einen spontanen Abschwächungsvorgang, durch den sie in die ungiftigen, aber noch bindungsfähigen Toxoide übergehen. Nur in einer Beziehung unterschied sich das Staphylolysin von den beiden anderen besprochenen Bakteriengiften. Während nämlich beim Diphtherie- und Tetanustoxin die Toxoide gleiche Avidität besitzen, wie die entsprechenden Toxine, während hier also das Prototoxoid z. B. ebenso avid ist wie das Prototoxin, erleidet nach der Ansicht von Neißer und Wechsberg die Avidität der Staphylotoxine durch ihre Umwandlung in Toxoid ebenfalls eine Abschwächung, derart, daß also das Prototoxoid schwächere Avidität besitzt, als das Prototoxin usw., ein Verhalten, das begreiflicherweise geeignet ist, die Neutralisationskurven des Giftes wesentlich zu komplizieren.

Schließlich haben die beiden Forscher auch noch einige Untersuchungen angestellt, die der Frage gewidmet sind, in welcher Beziehung das Staphylolysin zu dem zweiten charakteristischen Gifte der Aureuskulturen, zu dem Leukozidin stehen dürfte. Vieles schien zunächst dafür zu sprechen, daß zwar die toxophoren Gruppen dieser beiden Gifte, deren Menge keineswegs parallel zu gehen pflegt, voneinander verschieden sind, daß aber vielleicht die haptophoren Gruppen derselben identisch sein könnten. Hierfür konnte herangezogen werden, daß durch Immunisierung mit einem hämolysinhaltigen, aber leukozidinfreien Gift in der Regel auch ein Antileukozidin gebildet wird; ferner daß da, wo normalerweise Antistaphylolysin zu finden ist, wie bei Mensch und Pferd, auch stets Antileukozidin vorhanden zu sein pflegt, besonders aber, daß man durch Zugabe von Erythrocyten zu einer Giftlösung sowohl das Hämolysin, wie das Leukozidin zu absorbieren vermag, eine Tatsache, die für die Gleichheit der haptophoren Gruppen zu sprechen geeignet ist, vorausgesetzt, daß man nicht annimmt, daß die Erythrocyten Rezeptoren sowohl für das Hämolysin wie für das Leukozidin besitzen. Nur ein allerdings ausschlaggebender Einwand war gegen diese Auffassung zu erheben. Es ließ sich nämlich zeigen, daß die Leukocyten aus einem Staphylolysin niemals imstande sind, beide Gifte zu absorbieren, sondern daß zwar das Leukozidin aus der Giftlösung verschwindet, das Hämolysin dagegen in fast unverminderter Menge darin zurückbleibt. Auf Grund dieser Versuche sind Neißer und Wechsberg zu der Anschauung gelangt, daß die beiden Gifte sowohl verschiedene toxophore, wie verschiedene haptophore Gruppen besitzen und sich also etwa zueinander verhalten, wie das Tetanospasmin zum Tetanolysin.

In anderer Richtung bewegen sich die Untersuchungen, die P. Th. Müller[9]) im Ehrlichschen Institut angestellt hat. Arrhenius und Madsen hatten bei ihren physikalisch-chemischen Studien über die

[9]) Zentralbl. f. Bakt., **XXXIV**, 567, **1903** [*460*].

Neutralisierungsverhältnisse des Tetanolysins durch Serum und durch Eiereiweiß, welche beide eine starke antihämolytische Wirkung besitzen, die Anschauung gewonnen, daß das Gift mit den Proteiden dieser Substanzen Verbindungen eingehe, die zwar noch hämolytische Eigenschaften, aber in bedeutend schwächerem Grade, besitzen sollten. Da nun aber nach den Untersuchungen Ransoms die Vermutung nahelag, daß die antihämolytischen Wirkungen von Serum und Eiereiweiß auf die Anwesenheit von Lipoiden, speziell von Cholesterin, zu beziehen sein könnten, so war zu versuchen, ob es nicht möglich sei, die hemmende Wirkung des Serums und des Eiereiweißes von den Proteiden abzutrennen und auch mit den eiweißfreien Extrakten dieser Substanzen Schutzwirkungen zu erzielen. In der Tat ließ sich nun feststellen, daß die mit Alkohol gefällten Eiweißkörper selbst in großen Dosen jede hemmende Wirkung vermissen ließen, während die alkoholischen Extrakte mit starker antihämolytischer Kraft gegenüber dem Tetanolysin begabt waren. Damit war aber gezeigt, daß die hemmende Wirkung beim Serum und Eiereiweiß nichts mit den Proteiden zu tun hat, also nicht auf eine Verbindung des Tetanolysins mit dem Eiweiß bezogen werden darf, sondern höchstwahrscheinlich als eine pseudoantitoxische anzusehen ist, bei der es sich nicht um eine Bindung von Gift und Gegengift handelt, sondern vermutlich um physikalisch-chemische Lösungs- und Verteilungsverhältnisse des Giftes in den Lipoiden des Serums bzw. der Blutzellen.

Im Gegensatz dazu geht das Antistaphylolysin des normalen Serums, wie Sachs[10]) zeigen konnte, bei der Alkoholfraktionierung in den Niederschlag. Es entspricht also dieses differente Verhalten der Unabhängigkeit der im normalen Serum enthaltenen gegenüber Tetanolysin und Staphylolysin schützenden Funktionen, wie sie M. Neißer (l. c. [8]) bereits aus dem quantitativen vergleichenden Studium erschließen konnte.

Mit der Antikörpernatur des normalen Antistaphylolysins steht auch im Einklang, daß seine Reaktion mit dem Staphylolysin das Danysz-Dungernsche Kriterium zeigt, indem die Toxizität der Toxin-Antitoxingemische, ebenso wie bei Verwendung immunisatorisch erzeugten Antistaphylolysins, bei fraktioniertem Toxinversuch zunimmt (Sachs l. c. [10])). Das gleiche Verhalten trifft nach Sachs[11]) auch für das Tetanolysin zu. Es geben also auch die Hämotoxine bakteriellen Ursprungs bei ihren Antikörperreaktionen jenes Phänomen, aus dem Ehrlich und seine Schule den zwingenden Schluß ableiten konnten, daß die Reaktionen zwischen Toxin und Antitoxin nicht als reversible Vorgänge zwischen einheitlichen Substanzen aufgefaßt werden dürfen.

[10]) Zentralbl. f. Bakt., **XXXVII**, 251, **1904** [*544*].

[11]) Berl. klin. Wochenschr., H 16, **1904** [*543*].

8.

# Pflanzliche Toxine.

Von

**H. Ritz,**

Frankfurt a. M.

Ehrlichs Studien über die pflanzlichen Toxine beginnen in einer Zeit, zu welcher die Immunisierung gegen Infektionskrankheiten im Vordergrund des Interesses stand und die Analyse der bakteriellen Toxine die wissenschaftliche Welt beschäftigte. Es mag wohl für Ehrlich naheliegend gewesen sein, die pflanzlichen Gifte, die gerade in den vorhergehenden Jahren durch die Untersuchungen Koberts und seiner Schule in ihren physiologischen Wirkungen eingehend studiert waren, als Analoga der Toxalbumine der Bakterien heranzuziehen. Denn im Gegensatz zu den letzteren waren die zu den ersten Versuchen Ehrlichs benutzten giftigen Pflanzeneiweißkörper, das Ricin[1]), das Toxalbumin des Ricinussamens, und das als wirksames Prinzip der Jequiritybohne dargestellte Abrin[2]) Handelsprodukte geworden, die in genügender Reinheit und in jeder Quantität zu beziehen waren.

Die Experimente, die als ein Glied in der Kette früherer Untersuchungen Ehrlichs dazu beitragen sollten, die Beziehungen, welche zwischen chemischer Konstitution, der Verteilung in den einzelnen Organen und der physiologischen Wirkung bestehen, klarzulegen, gehören zu den besten und wichtigsten, die auf diesem Gebiete ausgeführt worden sind, und stellen den Grundstein für die theoretische Erkenntnis vieler Immunitätsphänomene dar.

Die ersten Versuche in dieser Richtung stammen aus dem Jahre 1890. Sie beschäftigen sich zuerst, in Anlehnung an die Untersuchungen der

[1]) Deutsche med. Wochenschr., H. 32, 976, **1891** [*49*].

[2]) Deutsche med. Wochenschr., H. 44, 1218, **1891** [*50*].

Kobertschen Schule, mit der Feststellung der physiologischen und toxikologischen Wirkung der Präparate, und führen zu einer Bestätigung und Erweiterung der bereits bekannten Tatsachen auf diesem Gebiet. Die in systematischer und exakter Weise vorgenommenen vergleichenden Untersuchungen über die Wirkungen des Ricins und Abrins liefern den endgültigen Beweis, daß sie trotz ähnlicher Wirkungen als durchaus verschiedene Körper anzusehen sind. Die Gründe hierfür ergeben sich aus der Verschiedenheit der Toxizität, die beim Ricin besonders bei Verfütterung sich als höher erweist, während umgekehrt die lokale Wirkung auf die Konjunktivalschleimhaut beim Abrin höher befunden wird. Ferner erweist sich der pathologisch-anatomische Befund bei abrinvergifteten Tieren insofern verschieden, als die Darmblutungen weit seltener und in nicht so ausgedehntem Maße beobachtet werden wie bei der Ricinvergiftung. Am prägnantesten manifestiert sich die Differenz bei subkutaner Einverleibung auf der Haut, wo einerseits beim Ricin sehr starke Entzündungen und ausgedehnte Nekrosen das Krankheitsbild beherrschen, während beim Abrin neben starken Indurationen ein spezifischer Haarausfall in den Vordergrund der Erscheinungen tritt, der an der Peripherie der Injektionsstelle beginnt und von da aus nach dem Zentrum schreitet, um allerdings bald wieder zu verschwinden.

Von großer Wichtigkeit ist die Beobachtung, daß abgesehen von der individuellen Empfindlichkeit, die an sich bereits ziemlich große Schwankungen bedingen kann, die Toxizität in hohem Maße von der Tierspezies abhängig ist. Weiße Mäuse vertragen beispielsweise ein vielfaches Multiplum der für Meerschweinchen toxischen Dosis. Man macht sich von der Intensität der Giftwirkung vielleicht einen Begriff, wenn man der auf Grund der Toxizitätsversuche aufgestellten Berechnung Ehrlichs folgt, wonach 1 g Ricin 1½ Millionen Meerschweinchen zu töten imstande wäre.

Zu den Immunisierungsversuchen wurden meistens weiße Mäuse benutzt, doch eigneten sich auch Kaninchen und Ziegen dazu. Störend erwies sich bei den Versuchen, durch subkutane Applikation die Mäuse giftfest zu machen, die bereits erwähnte stark entzündungserregende Eigenschaft der Eiweißkörper, die auch durch peinlich steriles Arbeiten nicht verhindert werden konnte. Bei Kaninchen gelang es, durch Einträufelung von Ricinlösungen von der Konjunktivalschleimhaut aus eine Immunisierung herbeizuführen, für Mäuse eignete sich am besten die Verfütterung der Eiweißkörper mit Hilfe der bereits früher von Ehrlich eingeführten Cakesmethode ausgezeichnet zur Erzielung ziemlich hoher Immunitätsgrade. Als typisches Beispiel dieser Art sei ein von Ehrlich (l. c. [1]) in seiner ersten Veröffentlichung über Ricin publizierter Versuch an einer weißen Maus mitgeteilt. Vorausgeschickt sei, daß als Dosis tolerata

0,02 g pro Cake, als Dosis letalis 0,035 g pro Cake ermittelt wurde, während die Anfangsdosen so gut wie indifferent waren.

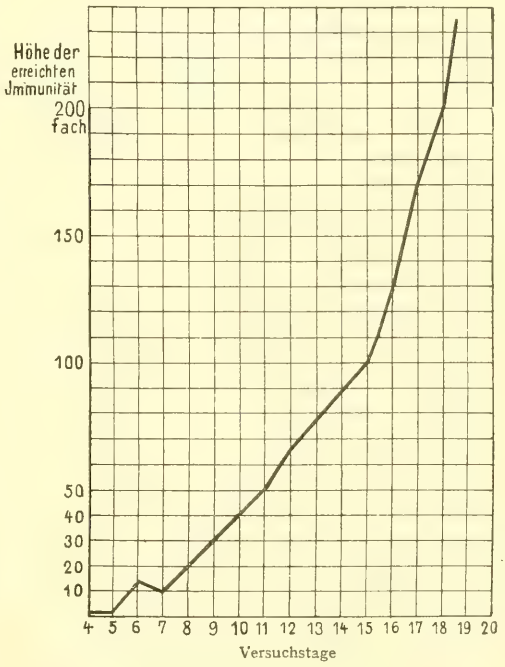
| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 10. Juni | 0,002 g pro Cake | 28. Juni | 0,11 | 21. Juli | munter, aber starke Diarrhoe, ausgesetzt |
| 12. ,, | 0,004 | 30. ,, | 0,12 | 22. Juli | 0,28 vollkommen erholt |
| 13. ,, | 0,006 | 2. Juli | 0,14 | | |
| 14. ,, | 0,008 | 4. ,, | 0,16 | 24. Juli | 0,30 |
| 16. ,, | 0,01 | 5. ,, | 0,18 | 26. ,, | 0,33 |
| 17. ,, | 0,0125 | 8. ,, | 0,21 | 28. ,, | 0,32 |
| 18. ,, | 0,015 | 10. ,, | 0,24 | 29. ,, | 0,34 |
| 19. ,, | 0,02 | 11. ,, | 0,27 | 31. ,, | 0,35 |
| 20. ,, | 0,03 | 13. ,, | 0,30 | 2. August | 0,36 |
| 21. ,, | 0,04 | 14. ,, | 0,33 | 3. ,, | 0,38 |
| 22. ,, | 0,05 | 16. ,, | 0,37 | 4. ,, | 0,40 |
| 23. ,, | 0,06 | 17. ,, | wiegt 12,5 g | 5. ,, | 0,45 |
| 25. ,, | 0,08 | 18. ,, | 0,40 | 6. ,, | 0,5 wiegt 11 g. |
| 26. ,, | 0,1 | 19. ,, | 0,43 | | |

Das Resultat des Versuchs war das erwartete. Bereits nach 10 Tagen konnte die tödliche Dosis anstandslos ertragen werden, nach 9 Wochen nahm die Maus täglich das ca. 15 fache der tödlichen Dosis zu sich, eine Menge, die nach Koberts Berechnungen ausreichen würde, einen erwachsenen Menschen zu töten. Wie vorauszusehen war, erwiesen sich Tiere, die mit Ricin und Abrin progressiv gefüttert worden waren, auch gegen die subkutane Injektion der Stoffe als widerstandsfähig. Es konnte auf diese Weise bequem eine Immunität nachgewiesen werden, die so ausgeprägt war, daß mit Leichtigkeit die 200 bis 400 fach tödliche Menge fast reaktionslos ertragen werden konnte. Im weiteren Verlauf der Versuche ergab sich dann, daß die Höhe der erreichten Immunität zwar in einem gewissen Abhängigkeitsverhältnis zur Höhe der verwandten Dosis steht, und daß zur Erzielung hoher Immunitätsgrade eine progressive Steigerung der Fütterungsmengen zweckmäßig ist, immerhin konnten schon durch regelmäßige Fütterung ganz kleiner Mengen (0,0003 g pro Cake) bis 200 fache Immunitätswerte erreicht werden. Relativ betrachtet erwiesen sich kleine Dosen sogar entschieden wirksamer, als große. Schwieriger gestaltete sich die Aufgabe, die Immunität zu ganz hohen Stufen zu bringen. Da mußte die Fütterung durch systematisch gesteigerte subkutane Injektionen ersetzt werden. Dies konnte um so leichter geschehen, als zugleich mit der Ausbildung der allgemeinen Immunität auch eine rein lokale Immunität beobachtet wurde, die sich sowohl bei den subkutanen Injektionen an den Wirkungen auf die Haut, als auch an der Konjunktiva dokumentierte. Während die letztere eine absolute war und dicke Ricin- oder Abrinpasten ganz wirkungslos blieben, war sie insofern im Unterhautzellgewebe nur eine relative, als zwar die nekrotisierende und indurierende,

beim Abrin auch die spezifische Wirkung auf den Haarboden bei mäßigen, wenn auch für die Kontrolltiere vielfach toxischen Dosen ausblieben, bei ganz hohen Dosen jedoch nicht unterdrückt werden konnten, so daß unter Umständen hochimmune Tiere, die an sich große Dosen ohne Allgemeinerscheinungen ertrugen, an den Folgen der ausgedehnten Nekrosen zugrunde gingen.

Was die Höhe der Immunität anlangt, so wurde bereits erwähnt, daß Immunitätsgrade von 200 bis 400 fach neutralisierender Wirkung durchaus gewöhnlich waren. Höhere Werte waren seltener und konnten auch nur durch fortgesetzte subkutane Injektionen erzielt werden, immerhin gelang es auch bei weißen Mäusen 800, sogar 1000 fache Werte zu erreichen, doch stellten die letzteren nach Ehrlichs Angaben die Grenze der erreichbaren Immunität dar. Bei Kaninchen werden höhere Werte angegeben (5000 fach bei einem Tier). Im allgemeinen war mit Ricin die Immunität leichter zu erzielen und stieg auch zu höheren Werten an, als bei Abrin.

Versuche über die Dauer der Immunität sind nicht systematisch durchgeführt worden, immerhin wird über ein Tier berichtet, welches schätzungsweise das 200 fache der letalen Dosis Ricin zu ertragen imstande war und noch nach $7\frac{1}{2}$ Monaten eine weit über 50 fache Immunität gehabt haben muß, da eine Injektion von $^1/_{4000}$ ohne weiteres überstanden wurde. Sehr interessant sind die Beobachtungen über die Entstehung der Immunität, die sich graphisch leicht durch nebenstehende Kurve veranschaulichen läßt, und aus der deutlich hervorgeht, wie die erhöhte Widerstandsfähigkeit von einer kaum nachweisbaren Steigerung der Resistenz am 5. Tage zwischen dem 5. und 6. Tage ganz plötzlich ein-




Verlauf der Ricinimmunität.

setzt und schon die relativ bedeutende Höhe des 13 fachen der letalen Dosis erreichen kann, um dann progressiv rapid in die Höhe zu steigen und bereits nach 18 Tagen das 200-, nach 20 Tagen das 400 fache zu erreichen. Dieses kritische Einsetzen der Immunität wird in Analogie zu dem kritischen Abfall des Fiebers bei manchen Infektionskrankheiten gesetzt, der ebenfalls am Ende der ersten Woche erfolgt, und das Experiment stellt zum erstenmal eine einwandfreie Stütze für die Auffassung dar, daß der kritische Temperaturabfall und das plötzliche Einsetzen der Immunität in einem ursächlichen Zusammenhang stehen.

Bedeutungsvoll für den Vergleich der Wirkung der pflanzlichen Toxalbumosen und der Wirkung der Bakteriengifte mußte nach der gerade in dieser Zeit erfolgten Entdeckung des Diphtherie- und Tetanusantitoxins durch Behring und Kitasato die Analyse des Blutes der immunen Tiere sein. Und in der Tat ergab sich als weiterer Beweis dafür, daß die durch Ricin und Abrin bedingte Immunität in prinzipieller Beziehung das vollkommene Analogon der Diphtherie- und Tetanusimmunität darstellt, die Anwesenheit von Schutzstoffen, des Antiricins bzw. Antiabrins, im Blute der immunen Tiere. Diese Schutzkraft ließ sich einerseits dadurch konstatieren, daß die Beimengung des Blutes immuner Tiere imstande ist, mehrfach tödliche Giftwirkungen aufzuheben, andererseits konnte durch die Injektion des Blutes ricinfester Tiere (Mäuse, Kaninchen) normalen Versuchstieren eine passive Immunität verliehen werden, deren Höhe natürlich je nach der Menge der zugeführten Flüssigkeit und der Immunität des blutspendenden Tieres variierte, immerhin aber in einem Falle durch Injektion eines hochwertigen Kaninchenimmunserums einen Wert von mindestens 1300 erreichte.

Die Dauer dieser passiven Immunität erwies sich als eine recht beschränkte, da die eben erwähnte hochimmunisierte Maus nach 39 Tagen nicht mehr imstande war, die subkutane Injektion einer doppelt tödlichen Dosis zu überleben. Jedenfalls ergaben weitere Versuche, daß die Dauer der passiven Immunität auf ca. 25 bis 30 Tage beschränkt und vom anfangs erzielten Maximum in steter Abnahme begriffen ist. Damit war ein prinzipieller Unterschied zwischen aktiver und passiver Immunität festgestellt.

Einen weiteren Beweis für die Verschiedenheit der im Ricin und Abrin wirksamen Substanzen wurde in der Tatsache gefunden, daß die von ihnen erzeugten Antitoxine keinerlei Beziehungen zueinander haben, da abrinimmune Tiere gegen Ricin wie normale empfindlich waren; ebenso reagierte umgekehrt beispielsweise ein hochricinimmunes Kaninchen prompt auf eine ganz dünne Lösung von Abrin, das ihm in die Konjunktiva geträufelt wurde.

Erwähnt sei noch, daß es Ehrlich auch leicht gelang, mit einem Stoffe aus der Akazienrinde, dem ebenfalls durch Kobert geprüften Robin, einer im Vergleich zum Rizin und Abrin schwach wirkenden Toxalbumose, Kaninchen und Mäuse zu immunisieren (l. c. [2]). Auch mit Crotin, dem aus den Crotonsamen stammenden Toxalbumin, konnte, wie noch des Näheren erörtert werden soll, Morgenroth[3]) Ziegen erfolgreich immunisieren.

Die Leichtigkeit, Tiere gegen Ricin und Abrin zu immunisieren und die bereits durch Ehrlich proklamierte absolute Analogie der Wirkungsweise der Phytalbumine mit den Wirkungen bakterieller Toxine eigneten sich sehr zur Lösung einiger weiterer wichtiger Fragen auf dem Gebiete der Immunitätsforschung. So wurde zuerst von Ehrlich[4])[5]) selbst die Immunität durch Vererbung und Säugung an ricin- und abrinimmunisierten Mäusen genauer studiert, über die von anderer Seite (vgl. C. 15) eingehender berichtet werden soll, und die, kurz zusammengefaßt, das Ergebnis gezeitigt hat, daß die Immunität nicht vom Vater, sondern von der Mutter und zwar durch Mitgabe der eigenen Antikörper auf das Kind vererbt wird. Bei der näheren Analyse der auffallenden und mit den früheren Beobachtungen in einem gewissen Gegensatz stehenden Tatsache, daß die passive Immunität der Kinder länger dauert, als die der erwachsenen Tiere, konnten durch den klassischen Ammen- und Vertauschungsversuch weitere fundamental wichtige Tatsachen aufgedeckt werden, die eine ganz plausible Erklärung für den Gegensatz mit den früheren Untersuchungen brachten. Zum erstenmal wird hier der Nachweis geliefert, daß die Antikörper nicht nur in das Blut, sondern auch in die Gewebsflüssigkeiten, speziell in die Milch übergehen, und daß die mit der Milch bei der Säugung aufgenommenen Antitoxine unverändert vom Magen-Darmkanal aus resorbiert werden können.

Es mag hier auch kurz erwähnt werden, daß die Immunisierung von Mäusen mit Ricin herangezogen wurde, um die Frage nach dem Einfluß der Milz auf die Immunität zu entscheiden. Benario[6]) konnte in einer auf Ehrlichs Veranlassung am Institut für Infektionskrankheiten in Berlin gemachten Arbeit zeigen, daß die Behauptung von Tizzoni und Cattani, nach der ein der Milz beraubter Organismus die Fähigkeit immunisiert zu werden einbüßt, auch für die Ricinimmunität der Mäuse nicht zu Recht besteht, da auch an einer entmilzten und in üblicher Weise mit sukzessiv gesteigerten Ricindosen behandelten Maus eine Immunität

[3]) Vgl. P. Ehrlich, Berl. klin. Wochenschr., H. 12, 273, **1898** [*63*].
[4]) Zeitschr. f. Hyg., **XII**, 183, **1892** [*53*].
[5]) Deutsche med. Wochenschr., H. 22, 511, **1892** [*54*].
[6]) Deutsche med. Wochenschr., H. 1, 8, **1894**, [*262*].

auftrat, die sich in keiner Weise von der bei dem Kontrolltier beobachteten unterschied.

Von ganz besonderer Bedeutung sind nun die im Anschluß an bereits erschienene Studien im Jahre 1897 aus dem Institut für Serumforschung und Serumprüfung hervorgegangenen Untersuchungen über das Wesen der Antitoxinwirkung[7]). Auch hier sind es wieder die Wirkungen des Ricins, die zum Gegenstande der Immunitätsstudien gemacht werden. Die Untersuchungen sind unter anderem deshalb so wichtig, weil hier Ehrlich zum erstenmal die ganze Reaktion zwischen Toxin und Antitoxin im Reagenzglas vor sich gehen läßt und damit eine Methode begründet, die für die Immunitätsforschung von der allergrößten Bedeutung wurde. Dem Versuch liegt die Beobachtung Koberts zugrunde, daß Ricinlösungen die Fähigkeit haben, die Blutkörperchen gewisser Tiere zusammenzuklumpen. Diese Fähigkeit kann, wie Ehrlich zeigen konnte, durch das Serum ricinimmunisierter Tiere aufgehoben werden. Des weiteren zeigt sich, daß solche Ricin-Antiricingemische auch im Tierkörper dann keine Erscheinung verursachen, wenn sich die Giftwirkung im Reagenzglase durch genügende Mengen Antitoxin als aufgehoben erweist. Diese Beziehungen zwischen Reagenzglas und Tierversuch werden durch folgende Übersichtstabelle deutlich zum Ausdruck gebracht, wo auf der einen Seite die agglutinationsaufhebende Wirkung eines Ziegen-Ricinimmunserums auf eine 5% Kaninchenblutkörperchenemulsion dargestellt, auf der anderen Seite der entsprechende Ausfall der Toxizitätsprüfung derselben Gemische verzeichnet ist.

| Reagenzglasversuch | | | | Tierversuch | |
|---|---|---|---|---|---|
| Mengen der 2% Ricinlösung ccm | Mengen des Antiricinserums ccm | Agglutination: Beginn | Agglutination: nach 24 Std. | Menge der injizierten Flüssigkeit ccm | Verhalten der Mäuse |
| 1,0 | 1,5 | 0 | 0 | 0,8 | Reaktionslos |
| 1,0 | 1,25 | 0 | 0 | 0,8 | Reaktionslos |
| 1,0 | 1,0 | nach 1 Std. | 0 Spur | 0,7 | Reaktionslos |
| 1,0 | 0,75 | nach 12 Min. | inkomplett | 0,6 | mäßige Induration |
| 1,0 | 0,5 | etwas verzögert | komplett | 0,5 | tot n. 30 Std. |
| 1,0 | 0,3 | sehr schnell | ,, | 0,4 | tot n. 18 Std. |
| 1,0 | 0 | sehr schnell | ,, | — | |

Die Tabelle zeigt in übersichtlicher Weise die vollkommene Übereinstimmung zwischen Reagenzglas- und Tierversuch sowohl in qualita-

[7]) Fortschritte d. Medizin, **XV**, 41, **1897** [*61*].

tiver als auch in quantitaver Beziehung und spricht ganz klar im Sinne der bereits früher von Ehrlich vertretenen Auffassung der direkten und chemischen Beeinflussung und gegen die von anderer Seite geltend gemachte Theorie einer indirekten Antitoxinwirkung.

In prinzipiell genau der gleichen Weise verläuft ein von Morgenroth (l. c. [3]) angesetzter Reagenzglasversuch mit dem bereits erwähnten Crotin, mit dem geringen Unterschied, daß hier als Toxin die dem Crotin zukommende Fähigkeit Kaninchenblutkörperchen aufzulösen, als Antitoxin die antihämolytische Funktion eines spezifischen Ziegenimmunserums figuriert. Es konnte auch an diesem Beispiel gezeigt werden, daß durch geeignete Mengen des Immunserums die Hämolyse vollkommen verhindert werden kann, während kleinere, nicht mehr neutralisierende Dosen eine partielle bzw. totale Hämolyse noch in Erscheinung treten lassen.*)

Abgesehen von diesen rein theoretischen Feststellungen sind die mit der Immunisierung durch Pflanzentoxine gewonnenen Erfahrungen auch praktisch verwertet worden. In erster Linie hat Ehrlich selbst (l. c. [2]) anläßlich der Untersuchungen über Abrinimmunität auf Grund von Kaninchenversuchen bereits auf die Möglichkeit hingewiesen, durch progressive Steigerung von Abrinlösungen auch am Menschen eine Therapie der pannösen Hornhauttrübungen mit Erfolg zu betreiben, wie sie später in ganz ähnlicher Weise von Römer empfohlen worden ist.

Praktisch wichtig ist auch eine aus der tierärztlichen Abteilung des Instituts für experimentelle Therapie zu Frankfurt hervorgegangene Arbeit von Bierbaum[8]), der eine praktisch äußerst brauchbare Methode ausarbeitete, um in Futtermitteln vorhandene Teile von hochgiftigen Ricinussamen nachzuweisen. Nachdem festgestellt worden war, daß die von Mießner angegebene Präzipitation durch spezifisches Antiserum und die Agglutination der Blutkörperchen keine genügende Garantie für einen absolut spezifischen Nachweis des Ricins bieten, wurde in der Komplementbindungsmethode eine Reaktion gefunden, die sich für den Nachweis ausgezeichnet eignet und streng spezifische und einwandfreie Resultate gibt.

---

*) Ehrlich[7a]) ist geneigt, bei den hier behandelten pflanzlichen Toxinen nicht prinzipiell zwischen Agglutination und Lyse zu unterscheiden. Er weist darauf hin, daß in den durch Ricin agglutinierten Haufen die Bedingungen für eine Diffusion des Hämoglobins ungünstig sind, und daß dementsprechend erst durch starkes Schütteln Hämolyse bewirkt wird.

---

[7a]) Schlußbetrachtungen, Nothnagels Spez. Pathol. u. Ther., **VIII, 1901** [75].

[8]) Zeitschr. f. Inf. d. Haustiere, **XII**, 351, **1912** [297].

In diesem Zusammenhange sei noch auf eine Arbeit von Bashford[9]) aus demselben Institut hingewiesen, obwohl sie sich nicht mit Pflanzentoxinen, sondern mit reinen isolierbaren Pflanzengiften beschäftigt. Es ist eine Erwiderung auf eine Arbeit von Pohl, der behauptete, daß eine Immunisierung mit Solanin möglich sei und daß der Solaninschutzkörper nichts anderes sei als saures Phosphat, wodurch die moderne Immunitätslehre als unhaltbar hingestellt werden sollte. An der Hand von exakten Versuchen wird diese Behauptung ad absurdum geführt, und es wird gezeigt, daß eine Immunisierung gegen Solanin nicht möglich ist, daß vielmehr die Hemmung der Solaninhämolyse durch Säure auf einer Entgiftung des Solanins durch einfache Salzbildung beruht, indem auf die Erythrozyten nur die freie Solaninbase hämolytisch wirkt.

Zusammenfassend darf man von Ehrlichs Studien über die Pflanzentoxine sagen, daß sie neben der Förderung der Kenntnisse der Wirkungen dieser interessanten Stoffe ganz besonders den Grundstein für die Erklärung der Immunitätsvorgänge gelegt und für die weitere Entwicklung der Immunitätslehre die wertvollsten Dienste geleistet haben.

[9]) Arch. intern. de Pharmocodynamie et de Therapie, **VIII**, 101, **1901** [247].

9.

# Tierische Toxine.

Von

**H. Sachs,**

Frankfurt a. M.

Das Studium hämolytischer Toxine tierischen Ursprungs in dem von Ehrlich geleiteten Institut folgt in engem Zusammenhang der Konzeption der Seitenkettentheorie. Durch die scharfe Differenzierung des Prinzips der chemischen Bindung von der pharmakodynamischen Giftwirkung waren der experimentellen Analyse der Toxinwirkungen mit aller Prägnanz definierbare Fragestellungen vorgezeichnet und damit neue Wege für das Eindringen in die Konstitution und den Wirkungsmechanismus der Gifte geebnet. Dazu kam, daß durch die berühmten Reagenzglasversuche Ehrlichs[1]) gezeigt worden war, daß die Antikörperwirkungen auch in vitro der Analyse zugänglich sind. Seit dieser zuerst am Beispiel der Hämagglutination durch Rizin gewonnenen Erkenntnis sind die Blutkörperchen ein Lieblingsobjekt der Immunitätsforschung geblieben. Sind sie doch in der Tat durch die Sinnfälligkeit, in der sie die eingetretene Schädigung durch den Vorgang der Hämolyse oder auch der Agglutination erkennen lassen, hervorragend geeignet für das quantitative und zahlenmäßige Studium der cytotropen Funktionen. So schließen sich den klassischen Untersuchungen Ehrlichs und Morgenroths[2]) über die Hämolysine des Blutserums nicht nur in zeitlicher Folge, sondern auch in natürlichem innerem Zusammenhang eine Reihe von Arbeiten über tierische Gifte an, welche vor allem die hämolytische Wirkung betreffen. Sie verdanken ihre Entstehung Ehrlichs direkter Initiative und durften sich seines steten Interesses und seiner Förderung erfreuen,

[1]) Fortschritte der Medizin, **XV**, 41, **1897** [*61*].

[2]) Berl. klin. Wochenschr., H. 1, **1899** [*192*]; H. 22, **1899** [*193*]; H. 21, **1900** [*194*]; H. 31, **1900** [*195*]; H. 10, **1901** [*196*]; H. 21/22, **1901** [*197*].

auch noch zu einer Zeit, als Ehrlich selbst den Mittelpunkt seines Schaffens in andersartigen Problemen gefunden hatte. Denn trotz aller Konzentration der Arbeitskraft, deren bewußte Art Ehrlich selbst gelegentlich mit den drastisch-scherzenden Worten „Scheuklappen rechts und links" zeichnet, hat er die Verbindung mit den von ihm erschlossenen Pfaden keineswegs abgeschnitten, und besonders hat das Studium der Schlangengifte durch ihn fortgesetzt Beachtung und Anregung erfahren.

### a) Empfindlichkeit und Resistenz.

Es gehört zu den wesentlichen Konsequenzen der Rezeptorenlehre, daß Unterschiede in der Giftempfindlichkeit, sofern ihnen Differenzen des Bindungsvermögens entsprechen, als eine Funktion des Vorhandenseins, Fehlens oder der Verteilung toxinbindender Rezeptoren aufzufassen sind. Die Probleme, welche bei der Analyse der Toxine in diesem Sinne interessieren mußten, betrafen daher gleichzeitig die Konstitution des Zellprotoplasmas und die Möglichkeiten ihrer Differenzierung. Gerade das Studium tierischer Hämolysine hat hierfür durch die Variabilität der Empfindlichkeit je nach der Herkunft der Blutkörperchen bemerkenswerte Beispiele ergeben. So lassen sich bereits bei dem von Pröscher[3]) mit den Methoden der Immunitätsforschung studierten hämolytischen Gifte der Feuerkröte, dem „Phrynolysin", dessen Toxinnatur Pröscher durch die gelungene Antikörpererzeugung nachwies, Unterschiede der Empfindlichkeit beobachten, welche eine Skala bis zur vollständigen Resistenz (beim Frosch- und Krötenblut) durchziehen. Fehlen für das Krötengift noch nähere Untersuchungen über die Ursache der verschiedenen Empfindlichkeit, so hat die Analyse des aus Kreuzspinnen gewonnenen „Arachnolysins" einen näheren, recht interessanten Einblick ergeben.

Als „Arachnolysin" wird ein von Sachs[4]) untersuchtes Gift bezeichnet, welches durch Extraktion zerriebener Kreuzspinnen erhalten wird. Das Arachnolysin ist ein hämolytisches Gift, das auf gewisse Blutarten (Kaninchen, Ratte, Maus, Mensch, Rind) außerordentlich stark und relativ rasch, auch bei Zimmertemperatur wirkt, das aber die Blutkörperchen anderer Tierspezies (Meerschweinchen, Pferd, Hammel, Hund) auch in größten Dosen vollkommen intakt läßt.

Die Unterschiede sind derart prägnante, daß, zumal bei der Schnelligkeit, mit der das Arachnolysin bereits bei Zimmertemperatur hämolytisch wirkt, diese Giftlösung im Frankfurter Institut vielfach benutzt wird, um insbesondere bei der Beschaffung von Schlachthofblut rasch darüber Auf-

[3]) Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol., **I**, 575, **1902** [*508*].
[4]) Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol., **II**, 125, **1902** [*537*].

schluß zu erhalten, ob etwa eine Verwechslung vorgekommen ist. Sonst in biologischer Hinsicht nahestehende Blutarten, wie z. B. Rinder- und Hammelblut oder Meerschweinchen- und Kaninchenblut, lassen sich in der Tat durch das Arachnolysin derart leicht unterscheiden.

Eine solche Spezifität der hämolytischen Giftwirkung ist bei chemisch definierten Blutgiften kaum anzutreffen. Der elektive Charakter der Arachnolysinwirkung illustriert besonders prägnant die den Toxinen zukommende eigenartige Qualität und veranschaulicht die Differenzen biochemischer Konstitution homologer Zellen verschiedener Tierarten, wie sie besonders durch das Studium der immunisatorisch erzeugten Hämolysine aufgedeckt werden konnten.

„Die Voraussetzung und die Ursache der Giftwirkung ist in allen diesen Fällen die Anwesenheit von geeigneten, an den Blutscheiben befindlichen Rezeptoren, welche in die haptophore Gruppe des Toxins eingreifen. ... Umgekehrt besteht also zwischen der natürlichen Immunität und dem Rezeptormangel der innigste Zusammenhang."

Diese von Ehrlich[5]) der Wirkungsart der Toxine gegebene Formulierung hat durch die Analyse des Kreuzspinnengiftes eine sehr charakteristische Bestätigung erfahren. Die Ehrlichsche Konzeption des Rezeptorbegriffes hat nicht nur die Erscheinungen dem Verständnis zugängig gemacht, sondern gleichzeitig auch einer rationellen Versuchsanordnung die Wege gewiesen, und so konnte bei der Eigenart der Arachnolysinwirkung das Experiment ohne weiteres den heuristischen Wert der Theorie erweisen. Die vorgenommenen Bindungsversuche entsprachen vollkommen der Erwartung, indem die der Arachnolysinwirkung gegenüber resistenten Blutkörperchen die Fähigkeit der Toxinbindung vollkommen entbehren, während die empfindlichen Blutsorten, ebenso wie die aus ihnen gewonnenen Stromata, das Arachnolysin binden*). Die natürliche Immunität gewisser Blutarten ist also hier ganz im Sinne der Rezeptorenlehre der Ausdruck des Fehlens geeigneter toxinbindender Rezeptoren.

Diesem engen Parallelismus zwischen Empfindlichkeit und Bindungs-

*) Zur Gewinnung der Stromata diente in den Versuchen von Sachs (l. c. [4]) eine Methode der Darstellung, die seither vielfach verwendet worden ist. Um nämlich die Ausbeute ergiebiger zu gestalten, als es bei der gewöhnlichen Herstellung durch Auflösen in destilliertem Wasser der Fall ist, wurde das Blut zunächst im Wasserbade bei 54—60° etwa ½ Stunde lang bis zum Lackfarbenwerden erhitzt. Sodann wird in der üblichen Weise (Verdünnen mit Wasser, Schütteln, Besalzen, Zentrifugieren) verfahren. Die derart gewonnenen Stromata haben ihre Rezeptorenqualitäten (Ambozeptorbindungs- und Immunisierungsvermögen) erhalten. Von dem arachnolysinbeladenen Stromata kann das Arachnolysin auf empfindliche native Blutkörperchen übergehen (l. c. [6]).

[5]) Nothnagels Spez. Pathol. u. Ther., **VIII**, **1901** [75].

vermögen entspricht die Toxinnatur des Arachnolysins. Es gelang sowohl von Kaninchen als auch von Meerschwinchen hochwertige antitoxische Sera zu gewinnen. Die Möglichkeit, auch das Meerschweinchen, dessen Blutkörperchen zu den absolut resistenten gehören, zur Immunisierung zu benutzen, gab zugleich einen interessanten Aufschluß über die Topik der Rezeptoren. Denn wenn sich das Meerschweinchen zur Gewinnung von Antiarachnolysin eignete, so mußten im Organismus arachnolysinbindende Rezeptoren vorhanden sein, wenn sie auch gerade an den Blutkörperchen fehlen. Tatsächlich konnte später Belonowski unter Morgenroths Leitung zeigen, daß bereits die Leukocyten des Meerschweinchens Arachnolysin binden. Auch in dieser Hinsicht hat also das Experiment die Richtigkeit der aus der Rezeptorentheorie gezogenen Konsequenzen erwiesen.

Was die Physiologie der arachnolysinbindenden Rezeptoren anlangt, so haben sich in weiteren Untersuchungen von Sachs[6]) interessante Verhältnisse ergeben. Durch vergleichende Untersuchungen der roten Blutkörperchen in verschiedenen Lebensaltern konnte der Nachweis erbracht werden, daß das Blut eben ausgeschlüpfter Hühner dem Arachnolysin gegenüber völlig unempfindlich ist, während die Blutkörperchen erwachsener Hühner zu den stark empfindlichen Blutsorten gehören. Es handelt sich also hier um eine angeborene vollständige Zellimmunität, die im späteren Leben verschwindet. Auch dieser passagere Zustand beruht auf Rezeptorenmangel. Die noch unempfindlichen Blutzellen sind nicht imstande, das Gift zu binden.

Bei anderen Blutarten (Rind und Kaninchen) handelt es sich um prinzipiell gleichartige Verhältnisse; nur haben die Unterschiede hier einen quantitativen Charakter. Bei der vergleichenden Analyse des Blutes verschiedener Altersstufen zeigte es sich, daß der vollständigen Unempfindlichkeit ein länger anhaltendes Stadium folgt, in welchem die Blutkörperchen empfindlich sind, aber auch durch größte Giftdosen nicht vollständig gelöst werden. Der ungelöste Blutkörperchenrest wurde dabei in dem Sinne gedeutet, daß die ursprünglich vorhandenen Blutkörperchen unempfindlich bleiben, und daß erst die nach dem Ausschlüpfen neu gebildeten Erythrocyten die giftbindenden Rezeptoren besitzen. Die normale vollständige Empfindlichkeit erwies sich nach 2—4 Wochen ausgebildet. Wenn man dieser Auffassung folgt, so ergeben sich aus diesen Feststellungen Schlußfolgerungen für die Frage der Lebensdauer der roten Blutkörperchen.

Die Unabhängigkeit, welche zwischen den einzelnen Rezeptorentypen nach der Lehre Ehrlichs besteht, zeigt sich sehr deutlich, wenn man die Blutkörperchen verschiedener Altersstufen auch gegen andere lytische Toxine prüft. So haben sich in den Versuchen von Sachs (l. c. [6])

[6]) Centralbl. f. Bakt., **XXXIV**, 686, **1903** [*541*].

die Blutkörperchen junger Tiere (auch des Huhns) dem Staphylolysin gegenüber empfindlicher erwiesen, als die Blutzellen Erwachsener. Es ergibt sich also auch hieraus, daß von einer Empfindlichkeit oder Resistenz nicht im allgemeinen gesprochen werden kann. Diese Begriffe sind vielmehr seit Ehrlich wesentlich als Funktionen des Vorhandenseins oder Fehlens der geeigneten Rezeptoren aufzufassen.

So sehr auch gerade das Beispiel des Arachnolysins die engen Beziehungen zwischen Empfindlichkeit und Giftbindungsvermögen demonstriert, so wäre es doch keineswegs im Sinne der von Ehrlich begründeten Lehren, wollte man etwa allgemein folgern, daß eine Toxinbindung ohne weiteres zur Vergiftung führen, Differenzen der Empfindlichkeit immer eine Funktion des Rezeptorenapparates sein müssen. Gerade die Seitenkettentheorie differenziert ja streng zwischen pharmakodynamischer und distributiver Wirkung, und die Ergründung der Konstitution des Toxinmoleküls, insbesondere die Toxoidlehre, weisen bereits darauf hin, daß eine Bindung erfolgen kann, ohne daß eine Vergiftung eintritt, sei es, daß der toxophore Apparat geschädigt ist, oder daß das Protoplasma zwar über Rezeptoren verfügt, aber der toxischen Wirkung gegenüber unempfindlich ist. Andererseits können verschiedenartige Faktoren der Zellkonstitution in Betracht kommen, ohne daß immer das Fehlen oder Vorhandensein von Rezeptoren im Sinne Ehrlichs das wesentliche oder alleinige Moment darstellen muß. Auch hierfür hat gerade das Studium der Wirkung tierischer Toxine unter der Führung Ehrlichs bemerkenswerte Beispiele geliefert. Es handelt sich dabei um Gifte, welche nicht direkt deletär wirken, sondern erst durch die Vermittlung „aktivierender" Stoffe zur Wirkung gelangen. Die Kenntnis dieses Typs von Giften hat von dem Hämolysin des Kobragiftes ihren Ausgang genommen, und das hämolytische Prinzip der Schlangengifte stellt auch heute noch das wichtigste und am besten studierte Prototyp dieser Klasse von Toxinen dar.

Durch die Untersuchungen von Kyes[7]), welche sich an die bedeutungsvollen Arbeiten von Flexner und Noguchi, sowie Calmette anschlossen, ist festgestellt worden, daß auch den Schlangengiften gegenüber wesentliche Differenzen der Empfindlichkeit bestehen. So läßt das am meisten zu experimentellen Studien herangezogene Kobragift Rinder-, Hammel- und Ziegenblut in physiologischer Kochsalzlösung absolut intakt, während es die meisten anderen Blutarten mehr oder weniger leicht löst.

Kyes hatte ursprünglich, ausgehend von der Annahme der Ambozeptornatur des Kobragiftes, bei der Erklärung der Hämolyse an und für sich empfindlicher Blutkörperchen auf eine Aktivierung durch „Endokomplemente" des Blutkörpercheninhalts geschlossen.

[7]) Berl. klin. Wochenschr., H. 38/39, **1902** [*398*].

Tatsächlich schienen die von Kyes entdeckten Tatsachen, daß einerseits lackfarbene Blutlösungen imstande sind, das Kobragift auch für unempfindliche Blutkörperchen zu aktivieren, daß andererseits die aktivierende Funktion dieser Blutlösungen thermolabil ist und durch Erhitzen auf 62° vollständig aufgehoben wird, im Sinne von Endokomplementen zu sprechen und zu der Vorstellung zu berechtigen, daß die dem Kobragift gegenüber empfindlichen Blutarten zugleich mit Rezeptor und Komplement versehen sind.

Jedoch zeigte die weitere Analyse im Laboratorium Ehrlichs durch Kyes und Sachs[8]), daß die aktivierende Fähigkeit von Blutlösungen und dementsprechend auch die direkte Empfindlichkeit der Blutkörperchen gegenüber Kobragift allein auf dem Lipoidgehalt der roten Blutkörperchen beruht. Das dabei in Aktion tretende Lezithin ist ein Bestandteil der Stromata.

Als Erklärung für die Inaktivierung der Blutlösungen bei 62° ergab sich, daß bei dieser Temperatur eine Kuppelung des Lezithins an das Hämoglobin erfolgt, während hämoglobinfreie Stromataaufschwemmungen bei dieser Temperatur nicht inaktiviert werden. Eine vorher auf 62° erhitzte Hämoglobinlösung ist jedoch bereits bei niedriger Temperatur imstande, das Lezithin zu inaktivieren, und es folgt daraus, daß durch den thermischen Einfluß primär das Hämoglobin alteriert wird und erst sekundär das derart veränderte Hämoglobin mit dem Lezithin leichter reagiert. Die Feststellung dieser Tatsache bedeutet zugleich, wie Sachs[9]) hervorgehoben hat, das erste Beispiel einer „Inaktivierung" von Lipoiden in eiweißhaltigen Lösungen, dem späterhin in zahlreichen Beobachtungen einer Thermolabilität von cytotoxischen Lipoiden in eiweißhaltigem Medium analoge Befunde folgten.

Für die Frage der variierenden Empfindlichkeit der verschiedenen Blutarten gegenüber dem Kobragift ergab sich aus den Untersuchungen von Kyes und Sachs (l. c. [8]) jedenfalls die Erkenntnis der Tatsache, daß die direkte hämolytische Wirkung des Kobragiftes wesentlich von der Beschaffenheit des Blutkörpercheninhalts abhängt, und zwar eine Funktion der Disponibilität des Lezithins für das Kobragift darstellt. Hatte bereits die physiologische Chemie festgestellt, daß das Lezithin einen konstanten Bestandteil der roten Blutkörperchen bildet, so war durch den Nachweis des Lezithins im Stroma zuerst über den Ort und die Art der Lezithinspeicherung etwas bekannt geworden. Nach den Ausführungen von Kyes und Sachs kann man sich vorstellen, daß das Lezithin in allen Blutarten an andere Substanzen der Stromata gebunden ist, die Festigkeit dieser Bindung aber weitgehend variiert. Je nach der Disponibilität des Lezithins werden nun die Blutkörperchen mehr oder weniger empfindlich sein, beim geringsten Grade der Dispositionsfreiheit aber absolut resistent

[8]) Berl. klin. Wochenschr., H. 2/4, **1903** [*404*].
[9]) Wien. klin. Wochenschr., H. 10, **1908** [*551*].

erscheinen. Ehrlich[10]) [11]) hat diese Verhältnisse daher gern herangezogen, um den von ihm geschaffenen Begriff der Athrepsie resp. der athreptischen Immunität dem Verständnisse näher zu bringen. In dem Faktor der Indisponibilität des Lezithins für die Kobragiftwirkung erblickt Ehrlich ein Beispiel derjenigen Momente, welche für die Athrepsie maßgebend sind, wenn man nämlich das zellzerstörende Kobragift mit dem Parasiten vergleicht, der einen bestimmten Nährstoff (in diesem Falle disponibles Lezithin) für sein unheilvolles Wirken benötigt. Es ist für diese Betrachtung irrelevant, ob man, wie das zuerst geschah, das hämolytische Prinzip des Kobragiftes als einen Ambozeptor auffaßt oder, wie das der neueren Auffassung entspricht und später noch erörtert werden wird, als ein lezithinspaltendes Ferment.

Ausgehend von dem durch den Begriff der Disponibilität des Lezithins geschaffenen Gesichtspunkte, der einen Einblick in die Art der Lezithinbindung und des Lezithinstoffwechsels gewährt, hat Sachs (l. c. [6]) die Empfindlichkeit der Blutzellen in verschiedenen Lebensaltern untersucht. Es zeigte sich dabei, daß fötales Rinderblut im Gegensatz zu dem Verhalten des Rinderblutes im späteren Leben gegenüber dem Kobragift eine recht beträchtliche Empfindlichkeit besitzt, ein Befund, welcher der physiologischen Bedeutung des Lezithins für die Entwicklung und das Wachstum der lebenden Organismen entspricht, indem er auf eine leichtere Disponibilität des Lezithins im juvenilen Leben hinweist. Beim neugeborenen Meerschweinchen liegen die Verhältnisse ähnlich. Aber auch bei Erwachsenen bestehen erhebliche individuelle Variationen, wie das Kyes und Sachs (l. c. [8]) zuerst für das Kaninchenblut festgestellt haben. Entsprechende Untersuchungen am Menschen durch die gleichen Autoren haben bei dem nur geringen zur Verfügung stehenden Material keine wesentlichen Unterschiede ergeben. Sie konnten nur zu weiteren Untersuchungen in dieser Richtung auffordern und haben ja in der Tat den Ausgangspunkt für eine größere Reihe von Versuchen zu einer diagnostischen Verwertung der Kobragifthämolyse (R. Kraus und viele andere) dargestellt.

Von Interesse sind in diesem Zusammenhang auch die Untersuchungen von Kyes[12]), welche die Empfindlichkeit verschiedener Blutkörperchenarten gegenüber verschiedenen Schlangengiften betreffen. Es ergaben sich dabei sehr regelmäßige Verhältnisse, welche Differenzen der verschiedenen Schlangengifte in bezug auf ihre Fähigkeit, das intrazelluläre Lezithin anzugreifen, dartun. Das Kobragift löst die meisten Blutarten auf, das am meisten

[10]) Zeitschr. f. Krebsf., **V**, 59, **1907** [*95*].
[11]) Beitr. z. exp. Pathol. u. Chemother., S. 50, **1909** [*100*].
[12]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, **XLI**, 273, **1904** [*401*].

empfindliche Meerschweinchenblut auch in geringster Menge. Es ergibt sich dann eine Skala der verschiedenen Schlangengifte, indem einerseits immer weniger Blutarten gelöst werden, andererseits immer größere Giftmengen zur Hämolyse des Meerschweinchenblutes erforderlich sind, bis endlich das Bothropsgift auch das Meerschweinchenblut nicht mehr zu lösen imstande ist.

Daß es sich bei den Schlangengiften um Ursachen der Empfindlichkeit und Resistenz handelt, welche augenscheinlich mit eigentlichen Rezeptorfunktion nichts zu tun haben, zeigt sich auch darin, daß selbst die resistentesten Blutarten, wie Hammel- und Rinderblut empfindlich werden, wenn man nur das übliche, durch physiologische Kochsalzlösung hergestellte Milieu durch ein salzfreies Medium ersetzt, eine von Göbel entdeckte und später vielfach bestätigte Tatsache. Das Verhalten des Rohrzuckerblutes gegenüber dem Kobragift und die Wirkung der Salze ist dann von Bang eingehend analysiert worden. Jedoch beziehen sich die Ausführungen Bangs wesentlich auf die Aufnahme des Kobragiftes durch die roten Blutkörperchen und nicht direkt auf den Mechanismus der Giftwirkung. Wenn man aber auch Bang darin folgt, daß einerseits der Salzbeschaffenheit des Blutkörpercheninhalts, andererseits dem umgebenden Milieu ein Einfluß auf die Aufnahme des Kobragiftes zukommt, so steht doch nichts im Wege, diesen Faktoren eine indirekte Funktion derart zu vindizieren, daß man ihnen einen Einfluß auf die Aufnahmefähigkeit der intrazellulären Lipoide gegenüber dem Kobragift zuschreibt. Es würde sich also in diesem Sinne an erster Stelle um Momente handeln, welche die Art der Lipoidspeicherung alterieren und bestimmen, und welche sich daher der von Ehrlich und seiner Schule vertretenen Auffassung, daß die wesentliche Ursache für die Empfindlichkeit gegenüber dem Kobragift die Disponibilität der intrazellulären Lipoide darstellt, gut unterordnen.

Erwähnt sei schließlich noch, daß Kudicke (vgl. Sachs, Tierische Toxine und Immunitätsforschung, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, II. Aufl., Bd. II, S. 1407, 1913) neuerdings im Ehrlichschen Institut gefunden hat, daß Kalksalze (Calciumchlorid) in geeigneten Mengen die Hämolyse empfindlicher Blutarten beschleunigen und verstärken, während größere Calciumchloriddosen, wie bereits Noguchi gezeigt hat, hemmend wirken.

### b) Komplexe Konstitution.

Auf Grund der von Ehrlich und Morgenroth als allgemeine Gesetzmäßigkeit erkannten Tatsache, daß die hämolytische Funktion des normalen Blutserums, ebenso wie diejenige der Immunsera, durch das Zusammenwirken zweier Komponenten (Ambozeptor und Komplement) bedingt ist, stand auch bei der Analyse der tierischen Hämotoxine im Ehrlichschen Institut die Frage nach der einheitlichen oder komplexen

Natur der wirksamen Agenzien im Vordergrund des Interesses. Man wird dabei, wie Ehrlich[13]) stets betont hat, negativen Versuchsergebnissen keine unbedingte Bedeutung zuschreiben können, da es mehr oder weniger von einem glücklichen Zufall abhängen kann, für das inaktivierte Hämolysin den geeigneten Aktivator zu finden, resp. eine Methode zur Trennung zweier Komponenten ausfindig zu machen. Bei dem Phyrnolysin und Arachnolysin führten die von Pröscher (l. c. [3]) und Sachs (l. c. [4]) unternommenen Versuche zu einem negativen Ergebnis, während von anderer Seite (Levy) neuerdings Beobachtungen zugunsten einer komplexen Konstitution des Arachnolysins mitgeteilt wurden.

Beim Kobragift hatten jedoch Flexner und Noguchi die wichtige Tatsache gefunden, daß das hämolytische Prinzip durch gewisse Sera in ähnlicher Weise aktiviert wird, wie die normalen und immunisatorisch erzeugbaren Ambozeptoren des Blutserums, eine Entdeckung, die von Ehrlich im Hinblick auf seine reichen Erfahrungen über die komplexe Konstitution der Serumstoffe freudig begrüßt wurde und ihm den Anlaß gab, eine weitere Analyse des Wirkungsmechanismus der Schlangengifte auf Grund der neu gewonnenen Erfahrungen einem seiner damaligen Mitarbeiter, Preston Kyes, zu übertragen. Die Untersuchungen von Kyes (l. c. [7]) führten in Verfolg einer interessanten Arbeit von Calmette, nach welcher die im Verein mit Kobragift aktivierende Wirkung der Sera durch Erhitzen auf 62° zunimmt oder auch erst hiernach in Erscheinung treten kann, zu der Entdeckung der gundlegenden Tatsache, daß thermostabile, in Alkohol und Äther lösliche Stoffe des Blutserums eine Aktivierung des Kobragiftes bedingen können, und daß an erster Stelle das Lezithin einen sehr geeigneten Aktivator des Kobragiftes darstellt. Wie später zu besprechen sein wird, handelt es sich dabei um eine Wirkungsart, die von dem Mechanismus der Ambozeptorfunktion zu unterscheiden ist, nämlich um das seither vielfach beobachtete Prinzip der „Lezithidbildung".

Auch bei der Aktivierung durch den Lipoidgehalt der Körperflüssigkeiten kommt natürlich der Disponobilität des Lezithins eine wesentliche Bedeutung zu. Daher auch die Alterationen durch thermische Einflüsse. Ziegenmilch aktiviert nach Kyes und Sachs (l. c. [8]) ebenso wie manche Serumarten erst nach dem Erhitzen auf 100°. Serum neugeborener Meerschweinchen aktiviert, wie Sachs (l. c. [6]) gezeigt hat, Kobragift erheblich stärker, als das Serum erwachsener Meerschweinchen, was ebenso, wie gleichsinnige Befunde über die Empfindlichkeit der Blutkörperchen für eine größere Disponibilität des Lezithins spricht. Um entsprechende Differenzen handelt es sich bei dem von Calmette zunächst für die Serodiagnostik der Tuberkulose angegebenen Prinzip.

[13]) Deutsche med. Wochenschr., H. 50/52, **1901** [*71*].

Jedoch haben die Arbeiten des Ehrlichschen Laboratoriums gezeigt, daß es von dieser Form der Hämolyse differenzierbare lytische Schlangengiftwirkungen gibt, welche entsprechend der zuerst von Flexner und Noguchi vertretenen Ansicht durch die Interferenz von echten Serumkomplementen zustandekommen. So wurden von Kyes und Sachs (l. c. [8]) eine Reihe von Faktoren ermittelt (Inkubationszeit der Hämolyse, Abhängigkeit der Hämolyse von der Temperatur, Einwirkung von Papain, Salzsäure, Natronlauge, Äther, Hefe auf das Serum u. a.), welche neben der Thermolabilität bei 56° eine scharfe Differenzierung echter Komplementfunktionen von der Lipoidaktivierung durch Blutserum ermöglichen. Auch läßt Cholesterin die Serumkomplemente fast unbeeinflußt, während es die aktivierende Wirkung des Lezithins stark hemmt. So ist insbesondere die Charakterisierung der Aktivatoren des frischen Meerschweinchenserums als Komplemente bei der Kobragifthämolyse von Rinder- und Hammelblut im Sinne von Kyes und Sachs späterhin allgemein bestätigt worden. Allerdings ist bei dieser Kombination eine Bindung der Kobragiftkomponente an die Blutkörperchen im salzhaltigen Milieu nicht wahrzunehmen, wie das Sachs[14]) in Übereinstimmung mit den Befunden von Lamb, Morgenroth und Kaya, und im Gegensatz zu mehr oder weniger abweichenden Angaben von Flexner und Noguchi, Kyes, von Dungern und Coca gezeigt hat. Freilich spricht der Mangel an Bindung noch nicht gegen die Ambozeptornatur. Denn die Avidität der cytophilen Ambozeptorgruppen kann im Sinne Ehrlichs zu gering sein, um mit dem Blutkörperchenrezeptor zu reagieren, und erst nach der Vereinigung der komplementophilen Gruppen mit dem Komplement eine hinreichende Aviditätssteigerung erfahren (vgl. hierzu insbesondere Ehrlich und Sachs[15]). Immerhin wird man, der eigenartigen Wirkungsart des Kobragifts Rechnung tragend, bei der Deutung der Erscheinungen mit besonderer Vorsicht zu verfahren haben.

So hat Sachs (l. c. [14]) die Annahme diskutiert, daß das Meerschweinchenserum durch gleichzeitigen Vorrat an Ambozeptoren in geringem Grade primär hämolytisch wirken könnte und derart disponibel gewordene Blutkörperchenlipoide sekundär eine Aktivierung des Kobragiftes herbeiführten. Ähnlich hatte schon Kyes (l. c. [17]) eine „Lezithinverschiebung" durch das Serum als solches supponiert. Immerhin begegnet auch die Durchführung dieses Erklärungsprinzips gewissen Schwierigkeiten, zumal auf Grund der Arbeiten von Morgenroth und Kaya, v. Dungern und Coca, auf welche hier verwiesen sei.

Wie sich aber der Vorgang auch abspielen mag, Tatsache bleibt jedenfalls, daß bei der Aktivierung durch frisches Meerschweinchenserum in

[14]) Münch. med. Wochenschr., H. 9, **1908** [*550*].
[15]) Berl. klin. Wochenschr., H. 21, **1902** [*206*].

Übereinstimmung mit den Untersuchungen von Kyes und Sachs (l. c. [8]) echte Komplemente mitwirken. Das ergibt sich auch aus dem Studium der Komplement inaktivierenden Funktion des Cobragiftes, für welche Sachs (l. c. 14) in Übereinstimmung mit Morgenroth und Kaya erweisen konnte, daß die antikomplementäre Wirkung des Cobragiftes auch gegenüber der das Kobragift aktivierenden Serumfunktion in Erscheinung tritt.

Aber die wichtigste und interessanteste Art der lytischen Cobragiftwirkung beruht auf einem anderen Prinzip, dessen Erkenntnis den von Ehrlich geleiteten umfassenden experimentellen Forschungen zu danken ist, demjenigen der Lezithidbildung.

### c) Lezithidbildung.

Flexner und Noguchi hatten festgestellt, daß Kobragift durch Serum aktiviert wird, Calmette hatte gezeigt, daß die aktivierende Wirkung des Serums oft nach dem Erhitzen auf 62° erhalten bleibt oder gesteigert ist, ja sogar in gewissen Fällen hiernach erst in Erscheinung tritt. War von Flexner und Noguchi die Serumaktivierung allgemein auf Komplemente bezogen worden, so hatte Calmette zwar eine Mitwirkung von Komplementen auf Grund der von ihm erhobenen Befunde ausschließen zu sollen geglaubt, aber dafür im Serum eine thermostabile „substance sensibilisatrice" neben einem thermolabilen Antihämolysin angenommen. Diese Hypothese wurde durch die Untersuchungen von Kyes (l. c. [7]) hinfällig. Die letzteren führten nämlich zu der Entdeckung des folgenden, für die weitere Analyse der hämolytischen Kobragiftwirkung grundlegenden, Tatsachenkomplexes:

1. Alle Sera wirken nach Erhitzen auf 65° und sogar auf 100° aktivierend.

2. Die aktivierenden Stoffe des Serums sind alkohol- und ätherlöslich.

3. Das Serum kann durch Lezithin ersetzt werden.

Zugleich zeigten die Versuche, daß durch ein und dasselbe Serum zwei verschiedene Formen der Aktivierung vermittelt werden können, nämlich einmal durch Komplemente, dann aber durch die thermostabilen resp. koktostabilen, in Alkohol und Äther löslichen Stoffe. Es zeigte sich nämlich, daß bei gewissen Kombinationen das frische Serum aktivierte (Komplementwirkung), das auf 56° erhitzte unwirksam war (Komplementinaktivierung) und das auf 65° erhitzte wiederum aktivierte (Manifestwerden der koktostabilen Aktivatoren durch Erhitzen).

Das bei der Erprobung der verschiedenartigsten Kombinationen zunächst verwirrend erscheinende Bild fand durch die von Ehrlich veranlaßte chemische Analyse eine befriedigende Erklärung. Eine Untersuchung der ätherlöslichen Substanzen des Blutserums ergab, daß

das Lezithin in hervorragendem Maße die Eigenschaften des Kobragiftaktivators besitzt. Kyes konnte schon damals (l. c. [7]) berichten, daß auch ein durch Acetonfällung gereinigtes Lezithinpräparat aktivierend wirkt, während Cerebrin und Protagon sich als unwirksam erwiesen. Kyes und Sachs (l. c. [8]) fanden später eine markante aktivierende Fähigkeit außer beim Lezithin nur noch beim Kephalin.

Andererseits wurden bei der Alkoholfraktionierung des Serums im Niederschlag die Wirkung des Aktivators hemmende Substanzen nachgewiesen, und Kyes erinnert zur Erklärung der Hemmungserscheinungen daran, daß das Lezithin ja sehr befähigt ist, sich mit Eiweißstoffen, Zuckerarten usw. zu paaren. Das verschiedene Verhalten der einzelnen Sera bei der Kobragiftaktivierung erklärt sich daher ohne weiteres aus dem Wechselspiel zwischen aktivierenden Stoffen und hemmenden Faktoren, deren Beziehungen durch thermische Einflüsse leicht alteriert werden können. Zu den hemmenden Stoffen gehört auch das von Kyes und Sachs (l. c. [8]) in dieser Richtung analysierte Cholestearin, welches danach zum Lezithin in einem ähnlichen Verhältnis steht, wie zum Tetanolysin in den bekannten Versuchen Ransoms, dagegen die Hämolyse durch Staphylolysin und Arachnolysin unbeeinflußt läßt.

Der im Verfolg der Untersuchungen von Kyes durch Kyes und Sachs beobachteten Tatsache, daß eine Hemmung der Kobragifthämolyse auch durch das den Blutzellen artgleiche Serum veranlaßt werden kann, entspricht in der Anordnung die von Much und Holzmann zu serodiagnostischen Versuchen in der menschlichen Pathologie herangezogene und als „Psychoreaktion" bezeichnete Methode. Ihren Ergebnissen liegt die Resultante der im Serum vorhandenen, die Kobragifthämolyse hemmenden und der sie befördernden Funktionen zugrunde. Einen Beitrag zu dieser Frage lieferte aus dem Ehrlichschen Institut die Arbeit von Schultz[16]).

Was nun die Beziehungen zwischen Kobragift und Lezithin anlangt, so zeigten bereits die ersten Versuche von Kyes (l. c. [7]), daß das Lezithin an Kobragift gebunden wird, und daß sich die Löslichkeitsverhältnisse des Lezithins dabei verändern. Während nämlich das Lezithin als solches aus einer wäßrigen Lösung durch Äther ausgeschüttelt wird (geprüft durch die Aktivierung des Kobragiftes), geht aus einer Mischung von Lezithin und Kobragift in Wasser beim Ausschütteln nur sehr wenig Lezithin in Äther über. Da ferner in Versuchen, die bei 0° ausgeführt wurden, weder Kobragift, noch Lezithin von den Blutkörperchen aufgenommen wurde, aber entsprechende Mischungen von Kobragift und Lezithin bereits bei der gleichen Temperatur hämolytisch wirkten, nahm Kyes an, daß es sich bei dem hämolytischen Prinzip des Kobragifts um

[16]) Münch. med. Wochenschr., H. 30, **1909** [577].

ein ambozeptorartiges Agens handelt, das an und für sich eine zu geringe Avidität zu den Blutkörperchenrezeptoren besitzt, aber durch das Eingreifen des komplementartig wirkenden Lezithins eine erhebliche Aviditätssteigerung erfährt, so daß die Verankerung des Komplexes an die roten Blutkörperchen und die hämolytische Wirkung ermöglicht wird.

Diese Auffassung des Zusammenwirkens von Kobragift und Lezithin, in deren Verfolg Ehrlich den erhofften direkten und eleganten Beweis für die Ambozeptortheorie erbringen zu können glaubte, hat sich zwar in dieser Form nicht als richtig erwiesen. Jedoch führte sie unter langjähriger Leitung Ehrlichs als heuristischer Wegweiser zu der Aufklärung des Prinzips der hämolytischen Kobragiftwirkung und eröffnete damit die Erkenntnis einer neuartigen Wirkungsart hämolytischer Gifte. Die relative Stabilität, welche dem Lezithin zukommt, und durch welche auch das Kobragift im Vergleich zu der Mehrzahl der Antigene ausgezeichnet ist, ließen es Ehrlich ganz besonders aussichtsreich erscheinen, auf chemischem Wege die weitere Analyse vorzunehmen und hier zu einer Reindarstellung des erwarteten synthetischen Produkts aus Kobragift und Lezithin zu gelangen. Da durch das dankenswerte Entgegenkommen der Herren Dr. Lamb und Dr. Greigh in Parel (Bombay), sowie von Herrn Prof. Calmette in Lille ausreichende Mengen des Kobragifts zur Verfügung standen, konnten die Versuche in größerem Maßstabe ausgeführt werden, und so gelangte Kyes[17]) durch Ausschütteln einer wäßrigen Cobragiftlösung mit einer Lösung von Lezithin in Chloroform dazu, aus dem abgeschiedenen Chloroformteil durch Ätherfällung eine schneeweiße Substanz zu erhalten, welche sich markant von den Eigenschaften der beiden Ausgangskomponenten unterscheidet und das hämolytische Reaktionsprodukt darstellt, welches aus dem Zusammenwirken von Kobragift und Lezithin entsteht. Das von Kyes (l. c. [17]) ausgearbeitete, von Kyes[18]), Manwaring[19]) und Sachs modifizierte Verfahren sei in folgendem kurz geschildert:

½ %ige wäßrige Lösungen von Kobragift werden mit der gleichen Menge 20 %iger Lösung von Lezithin in Chloroform geschüttelt. Die sich dabei bildende Säure (bestimmt durch Titrierung —5 ccm der Emulsion +5 ccm Amylalkohol + 10 ccm Methylalkohol — mit $^1/_{10}$ n-Natronlauge gegen Phenolphthalein) wird durch wiederholten Zusatz von Natronlauge zur Hälfte neutralisiert und nach je 2 Stunden langem Schütteln so lange abgestumpft, bis eine weitere Säurebildung nicht mehr wahrzunehmen ist. Schließlich wird Salzsäure entsprechend der gesamten verwendeten Alkalimenge zugefügt.

[17]) Berl. klin. Wochenschr., H. 42/43, **1903** [*399*].

[18]) Bioch. Zeitschr., **IV**, 99, **1907** [*402*].

[19]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **VI**, 513, **1910** [*416*], vgl. auch Johns Hopkins hospital bull. **XXI**, Nr. 234, **1910** [*417*].

Nach Zusatz von 2 Teilen Alkohol zu 10 Teilen der Gesamtemulsion entsteht ein leicht zentrifugierbares Gemisch, aus dem sich bereits beim Stehen im Scheidetrichter die Chloroformschicht rasch und klar sedimentiert.

Die derart erhaltene Chloroformschicht wird durch mehrfaches Schütteln mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, filtriert und durch 10 Teile wasserfreien Äthers bei —10° gefällt. Der erhaltene Niederschlag wird in Alkohol aufgenommen und das alkoholische Filtrat wiederum durch Äther gefällt.

Der derart gereinigte und getrocknete Niederschlag stellt ein schneeweißes Präparat dar, das im Gegensatz zum Kobragift in Alkohol und Chloroform, im Gegensatz zum Lezithin in Wasser löslich, aber in Äther unlöslich ist.

Zur Gewinnung geringer Mengen der gleichen Substanz kann man nach Kyes (l. c. [17]) auch ein Schnellverfahren benutzen:

Es werden gleiche Teile 4%iger wäßriger Kobragiftlösung und 20% Lezithinlösung in Methylalkohol mehrere Stunden lang bei 37° wiederholt geschüttelt und dann unter Zusatz von 10 Teilen absoluten Alkohols durch Zentrifugieren vom Niederschlag getrennt. Durch Ausfällen des Filtrats mit Äther erhält man das Endprodukt.

Das erhaltene Präparat bezeichneten Ehrlich und Kyes als „Kobralezithid", in der Voraussetzung, hiermit das gesuchte Kondensationsprodukt aus Kobragift und Lezithin erhalten zu haben. Das Kobralezithid ist ein außerordentlich stark und rasch wirkendes Hämolytikum für alle Blutarten; die hämolytische Dosis beträgt durchschnittlich 0,05—0,025 mg für 1 cm 5%iger Blutaufschwemmung.

Das Präparat gibt auch in konzentrierten Lösungen keine Biuretreaktion. Seine hämolytische Funktion ist koktostabil, allerdings, wie sich aus späteren Erfahrungen Kudickes im Ehrlichschen Institut ergab, absolut koktostabil nur in stärkeren Konzentrationen.

In der wäßrigen Lösung des frisch hergestellten Lezithids (primäres Lezithid) entsteht beim Lagern ein Niederschlag, das von Kyes (l. c. [17]) sogenannte sekundäre Lezithid. Organischen Solventien gegenüber und in biologischer Hinsicht verhalten sich primäres und sekundäres Produkt identisch. Nur ist das sekundäre Lezithid nicht in kaltem, wohl aber in warmem Wasser leicht löslich.

Die große Reinheit des Präparates wurde bestätigt durch die sehr interessanten Ergebnisse der von R. Willstätter vorgenommenen chemischen Untersuchung (vgl. hierzu die unter Willstätters Leitung entstandene Dissertation von K. R. Lüdecke, „Zur Kenntnis der Glyzerinphosphorsäure und des Lezithins", München 1905), sowie die spätere Arbeit von P. Kyes (l. c. [18]). Das Ergebnis der chemischen Analyse war, kurz zusammengefaßt, daß das Kyessche Präparat eine einheitliche analysenreine Substanz darstellt, deren elementare Zusammensetzung derjenigen eines Monofettsäurelezithins ent-

spricht. In Übereinstimmung damit konnte Lüdecke die bei dem Vorgang der Lezithinbildung abgespaltene Fettsäure in dem Äther, welcher zur Ausfällung des Lezithins gedient hatte, nachweisen. Durch diese Untersuchungen war den von anderer Seite geäußerten Anschauungen, nach denen es sich bei dem Zusammenwirken von Kobragift und Lezithin um eine reversible Reaktion oder um einfache Adsorptionsvorgänge resp. Kolloidreaktionen handeln sollte, der Boden entzogen worden (vgl. hierzu Kyes[20]). Besonders auf Grund der Ergebnisse der Elementaranalyse waren nur noch zwei Möglichkeiten der Deutung vorhanden: es konnte sich

1. entweder bei dem Kobralezithid um einen reinen Abkömmling des Lezithins, durch fermentative Kobragiftwirkung entstanden, handeln,

2. oder aber um eine Verbindung dieses Lezithinabkömmlings mit einer Komponente des Kobragiftes.

Die erstere Auffassung wurde von Anfang an von Lüdecke vertreten, der letzteren glaubte Kyes mit Ehrlich zuneigen zu sollen, nachdem er durch Immunisierung von Kaninchen mit dem Lezithinpräparat ein antilytisches Serum erzeugen konnte[21]). Jedoch haben es spätere Untersuchungen v. Dungerns und Cocas wahrscheinlich gemacht, daß die von Kyes erhaltenen Antikörper nicht durch das fertige hämolytische Reaktionsprodukt, sondern durch Kobragiftbeimengungen entstanden waren, welche bei der damals noch unvollkommenen Darstellungsweise den Kyesschen Präparaten adhärierten. Durch Kochen der Lezithidlösungen wurde die Funktion der Kobragiftkomponente ausgeschaltet, und die Immunisierung gelang nicht mehr. Diesen von von Dungern und Coca erhobenen Befunden entsprechen die negativen Immunisierungsversuche von Morgenroth und Kaya, sowie diejenigen, welche mit reinen Lezithidpräparaten von Sachs (vgl. Manwaring (l. c. [19])) ausgeführt wurden.

Nachdem derart dem Lezithidpräparat eine Toxinnatur nicht mehr vindiziert werden konnte, hat auch Ehrlich die zuerst von Lüdecke, dann von v. Dungern und Coca vertretene Auffassung rückhaltlos anerkannt, und in einer von Manwaring (l. c. [19]) ausgeführten umfassenden Arbeit wurde der Zirkel der Beweise geschlossen, auf Grund deren das hämolytische Lezithid als ein reiner Lezithinabkömmling aufzufassen ist. Es gelang Manwaring den Nachweis zu führen, daß ein Kobragiftverbrauch bei der Lezithidbildung nicht stattfindet, und daß das wirksame Prinzip des Kobragifts nach der Einwirkung auf das Lezithin wiedergewonnen werden kann, ohne daß die Ausbeute an Lezithid leidet. Das

[20]) Bioch. Zeitschr., **VIII**, 42, **1908** [*403*].
[21]) Berl. klin. Wochenschr., H. 19, **1904** [*400*].

fermentative Agens des Kobragifts ließ sich auch aus der Chloroformschicht als alkoholunlösliche Fraktion isolieren. Wegen des eigentümlichen Verhaltens des Kobragiftes, das in einem gewissen Gegensatz zu seiner geringgradigen Fähigkeit, die wahren Fette zu verseifen (Neuberg und Rosenberg, Friedemann), Lezithin in so außerordentlicher Stärke zu spalten geeignet ist, hat Manwaring das wirksame Ferment des Kobragiftes als „Lezithinase" bezeichnet.

Bei dieser veränderten Auffassung der Natur des hämolytischen Endprodukts, welches beim Zusammenwirken von Kobragift und Lezithin entsteht, ist jedoch im Sinne Ehrlichs (vgl. Manwaring, l. c.[19]) kein Gegensatz zu der Annahme vorhanden, daß bei dem sich abspielenden Prozeß primär eine chloroformlösliche Verbindung der Lezithinase mit dem Lezithin unter Abspaltung eines Fettsäurerestes erfolgt, aus welcher sekundär durch Alkohol oder Äther die Lezithinkomponente, das Monofettsäurelezithin, isoliert werden kann. Tatsächlich wird auch von dem fertigen Lezithid in Chloroform die Lezithinase aus wäßriger Lösung aufgenommen. Entsprechend der neugewonnenen Auffassung muß auch die von Kyes (l. c. [18]) vorgenommene Differenzierung von kompleten und inkompleten Lezithiden, welche beim Zusammenwirken geringerer Lezithinmengen mit Kobragift entstehen, modifiziert werden. Gleichwohl bieten die Angaben von Kyes in dieser Richtung wegen der Beziehungen zwischen Lezithin und Schlangengiftlezithinase, welcher Art auch die letzteren sein mögen, ein nicht geringes Interesse.

In quantitativer Hinsicht sind auch die Beobachtungen von Kyes und Sachs (l. c. [8]) von Interesse, nach denen in gewissen Grenzen die zur Hämolyse notwendigen Kobragift- und Lezithinmengen umgekehrt proportional sind. Ein Überschuß von Kobragift beansprucht jedoch einen größeren Lezithinbedarf, wofür Kyes und Sachs, ebenso wie Kyes (l. c. [7]) für das Ausbleiben direkter hämolytischer Wirkung bei großen Kobramengen, eine Ablenkung, resp. Verteilung des Lezithins verantwortlich gemacht haben.

Zusammenfassend darf man das Verfahren der Lezithidgewinnung als eine mit größter Sorgfalt ausgearbeitete und nach gesetzmäßigen Prinzipien arbeitende Methode bezeichnen, der jedenfalls die Aufklärung der Lezithinasewirkung zu danken ist. Die ursprünglich von Ehrlich und Kyes vertretene Auffassung, nach welcher es sich bei dem hämolytischen Endprodukt nur entweder um einen Abkömmling des Lezithins oder um eine Lezithinverbindung des Schlangengifts handeln kann, ist gegenüber allen in andersartiger Richtung versuchten Deutungsformen zu recht bestehen geblieben, und es ist wohl als ein einzig dastehendes Faktum in der Immunitätsforschung zu betrachten, daß das Produkt der Wirkung eines so ausgesprochenen Antigens, wie es das Kobragift ist, durch die Methoden der Chemie mit solcher Exaktheit analysierbar wurde.

Ausführungen Bangs, welcher trotz der neu gewonnenen Kenntnisse wegen des primären Vorhandenseins ätherfällbarer Beimengungen in

Lezithinpräparaten das Kobralezithid als einfache Adsorptionsverbindung im Sinne der Lezithinglokose usw. auffassen wollte, ist in den Arbeiten von Manwaring (l. c. [19]) und Sachs[22]), deren Argumente teilweise mit den auch von v. Dungern und Coca erhobenen Einwänden sich decken, entgegengetreten worden, und auch Ehrlich[23]) selbst hat in Gemeinschaft mit Sachs noch einmal zu den hier erörterten Fragen das Wort genommen.

Der fermentative Charakter, durch welchen die Einwirkung des Kobragifts auf das Lezithin gekennzeichnet ist, hat auch eine weitere Bestätigung in neueren interessanten Versuchen gefunden.

Delezenne und Ledebt beobachteten beim Digerieren geeigneten Materials mit Kobragift nach dem Manifestwerden einer maximalen hämolytischen Kraft ein zweites Stadium, in welchem das Gemisch die erworbene hämolytische Funktion allmählich wieder einbüßt. Als Ursache dafür nehmen sie eine weitere Spaltung des primär gebildeten Hämolysins an und machen dafür dialysable, durch Natriumzitrat oder -oxalat zu beseitigende Bestandteile verantwortlich. Es bilden sich nach den Angaben von Delezenne und Ledebt dabei durch Abspaltung der gesättigten Fettsäuren unlösliche Kalkseifen. In Verfolg dieser Angaben habe ich in Gemeinschaft mit Herrn Regierungsarzt Dr. Kudicke weitere noch nicht publizierte Versuche ausgeführt, aus denen sich ergab, daß Kalksalze (Calciumchlorid) einerseits die Hämolyse durch Kobragift und Lezithin nicht unerheblich verstärken können, daß andererseits auch durch die alleinige Einwirkung des Kobragifts auf das isolierte Cobralezithid eine Entgiftung erfolgt, die aber durch die Gegenwart von Kalksalzen verstärkt wird.

Es ergibt sich mithin, daß die Elimination der durch Kobragiftwirkung im Sinne von Ehrlich, Kyes und Lüdecke freiwerdenden Fettsäuren in Form der unlöslichen Kalkseifen den Prozeß begünstigt, und zwar sowohl im Sinne der Giftbildung, als auch im Sinne der Entgiftung. Man darf wohl annehmen, daß schließlich durch Abspaltung beider Fettsäurereste ein biologisch unwirksames Lezithinderivat gebildet wird, das dem Cholinglyzerophosphat entsprechen würde. Es steht in Übereinstimmung mit dieser Annahme, daß bereits früher Manwaring (l. c. [19]) ein auf Veranlassung Ehrlichs untersuchtes, von der Firma Blattman & Co. in den Handel gebrachtes Cholinglyzerophosphat frei von hämolytischer und kobragiftaktivierender Wirkung fand. Auch sei erwähnt, daß bereits in der Arbeit von Kyes und Sachs (l. c. [8]) als wirksame Gruppe der aus dem Zusammenwirken von Kobragift und Lezithin resultierenden Substanz mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit der Fettsäurerest angesprochen wurde.

Nachdem derart in der fermentativen Wirkung der Kobralezithinase auf das Lezithin der Wirkungsmechanismus der Kobrahämolyse erkannt

[22]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **VIII**, 210, **1910** [*555*].

[23]) Münch. med. Wochenschr., H. 24, **1910** [*210*].

ist, steht nichts im Wege, auch die direkte Hämolyse des Kobragifts in letzter Linie auf die Bildung des Monofettsäurelezithins aus den Lipoiden des Blutkörpercheninhalts durch Lezithinasewirkung zurückzuführen. Dabei wird man für die Aufnahme der Lezithinase durch die Blutkörperchen sowie für die Disponibilität des Lezithins sowohl die intrazelluläre, wie auch die extrazelluläre Beschaffenheit des Mediums verantwortlich machen können; die Arbeiten Bangs erscheinen in dieser Hinsicht von besonderem Interesse. Über die Fähigkeit von Fettsäuren, Seifen, Chloroform, Neutralfetten usw., eine gewisse Aktivierung des Kobragifts zu bedingen, haben bereits Kyes und Sachs (l.c. [8]) berichtet; jedoch glaubten sie gleichzeitig diese Vorgänge nicht als reine Aktivierungserscheinungen, vielmehr als die Folge indirekter Einflüsse auf die Disponibilität des Blutkörperchenlezithins betrachten zu sollen.

Der Einfluß der genannten Stoffe unterscheidet sich von demjenigen des Lezithins und Kephalins darin, daß sie bereits in wenig größeren Mengen an und für sich eine nicht unerhebliche hämolytische Wirkung ausüben. Kyes und Sachs haben daher bereits damals vermutet, daß auch die von Korschun und Morgenroth[24]) analysierten alkohol-ätherlöslichen, koktostabilen Organhämolysine in die Klasse der Fettsäuren und Seifen gehören könnten. Spätere Arbeiten aus dem Ehrlichschen Institut, denen zugleich durch die Erfordernisse der Wassermannschen Reaktion entstandene Probleme als Fragestellung dienten (vgl. Sachs und Altmann[25]), Sachs und Rondoni[26]), Rondoni[27]) haben weitere Beiträge zur hämolytischen Wirkung der Organextrakte und Lipoide geliefert.

Durch die unter Ehrlichs Leitung ausgeführte Analyse der hämolytischen Kobragiftwirkung ist der biologischen Forschung ein neues Gebiet erschlossen worden, und das Kobragift hat sich als das Prototyp einer größeren Klasse in ähnlicher Weise indirekt hämolytisch wirkender Agenzien erwiesen.

Zunächst erstreckt sich das Prinzip der Lezithidbildung, wie bereits Kyes (l. c. [17]) gezeigt hat, in mehr oder weniger starkem Grade auf die Schlangengifte im allgemeinen und umfaßt auch den Mechanismus der durch Skorpionengift bedingten Hämolyse. Ferner kommt dem Bienengift auf Grund der Untersuchungen von Morgenroth und Carpi die gleiche Wirkungsart zu, und von dem Hämolysin des Trachinusgiftes darf man nach Untersuchungen Briots das gleiche vermuten. Auch in den Organen, Geweben, Sekreten höherer Tiere mag der von Kyes entdeckte Mechanismus der hämolytischen Wirkung eine Rolle spielen. Es liegt jedoch nicht im Rahmen des vorliegenden Aufsatzes auf dieses Gebiet, an dessen Analyse insbesondere Delezenne, Friedemann, Wohlgemuth, Neuberg und Reicher, Noguchi, Morgen-

[24]) Berl. klin. Wochenschr., H. 37, **1902** [*391*].
[25]) Berl. klin. Wochenschr., H. 10, **1908** [*561*].
[26]) Zeitschr. f. Immunitätsf. **I**, 132, **1908** [*569*].
[27]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **IX**, 191, **1911** [*531*]

roth, Reicher, Schäfer, Faust und Tallquist u. a. Anteil haben, näher einzugehen. Bemerkenswert ist, daß die im Laboratorium Ehrlichs aufgefundene Tatsache, nach welcher Cholesterin die Wirkung des Lezithins resp. des Lezithids hemmt, durch Morgenroth und Reicher in dem Versuche, die durch Lezithide oder ähnliche Stoffe bedingte Anämie durch Cholesterindarreichung zu beeinflussen, therapeutische Anwendung gefunden hat.

Obwohl das Phänomen der Lezithidbildung demnach einen größeren Geltungsbereich beanspruchen darf, wird man nicht allgemein Synergismen welche durch die Interferenz des Lezithins oder anderer Lipoide zur Hämolyse führen, ohne weiteres im Sinne der Lezithidbildung auffassen dürfen. Als ein Beispiel dieser Art sei die gerade von Ehrlich und seinen Schülern vielfach studierte zellschädigende Wirkung des Sublimats angeführt, dessen außerordentlich starke hämolytische Kraft durch Ehrlich[28]) bereits im Jahre 1885 in der Arbeit „Zur Physiologie und Pathologie der Blutscheiben" beschrieben worden ist.

Später wurde die Sublimathämolyse auf Veranlassung Ehrlichs von Sachs[29]) zum Gegenstand des Studiums gemacht. Es handelte sich dabei um die Aufklärung der von Matthes beschriebenen Tatsache, daß durch Sublimat, resp. Hayemsche Lösung abgetötete Blutkörperchen sich im eigenen Serum auflösen. Da derselbe Vorgang auch durch inaktiviertes Serum, ja durch Lösungen von Jodkalium oder Natriumhyposulfit zu erreichen war, ergab sich, daß es sich hier nicht um Wirkungen fermentativer Art handelte, daß vielmehr das Serum, ebenso wie die genannten Chemikalien, lediglich im Sinne einer Entziehung des in den Blutzellen haftenden und ihre Lösung verhindernden Sublimats fungiert. Das Sublimat bewirkt nämlich im Sinne Ehrlichs (l. c. [28]) eine Abtötung des Discoplasmas, das im lebenden Zustand die Diffusion des Hämoglobins verhindert. Größere Sublimatkonzentrationen aber verhindern, sei es durch ihre Verbindung mit dem Hämoglobin, sei es durch eine Dichtung des Diskoplasmas, den Austritt des Blutfarbstoffs. Die Enthärtung der Blutkörperchen aber bewirkt den sofortigen Austritt des Hämoglobins.

Daß der Angriffspunkt des Sublimats als Blutgift in der Tat wesentlich in Eiweißsubstanzen und nicht in den Zelllipoiden, wie es Detre und Sellei annahmen, gelegen ist, zeigte eine weitere Analyse von Sachs[30]). Nach letzterer ist die die Sublimathämolyse hemmende Funktion des normalen Blutserums an die Eiweißfraktion gebunden. Dagegen konnte durch Lezithin eine Beschleunigung und Verstärkung der hämolytischen Wirkung des Sublimats erzielt werden. Hieran schließt sich eine weitere Arbeit, in welcher Ritz[31]) den Einfluß von Lipoiden, Organextrakten und Alkohol auf die Sublimathämolyse analysierte und in Übereinstimmung mit anderen Autoren zu dem Schluß gelangte, daß zwar eine hinreichende Sublimatmenge durch das Moment der verstärkenden Lipoidwirkung die Wassermannsche Reaktion larvieren kann.

[28]) Charité-Annalen, X, 136, **1885** [*34*].
[29]) Münch. med. Wochenschr., H. 5, **1902** [*536*].
[30]) Wien. klin. Wochenschr., H. 35, **1905** [*547*].
[31]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **VII**, 170, **1910** [*516*].

daß aber eine derartige Störung durch einen Quecksilbergehalt des Blutserums auszuschließen ist.

### d) Vielheit der Giftkomponenten.

Die pluralistische Betrachtungsweise bildet in der Deutung biologischer Vorgänge durch Ehrlich ein sehr charakteristisches Moment. Sie erscheint zu seiner so ausgesprochenen und glücklichen Eigenart, für eine Vielheit von Erscheinungen in der Theorie einen einheitlichen, heuristisch wertvollen Ausdruck zu gewinnen, zunächst in einem gewissen Gegensatz. Denn das Prinzip, für differente Wirkungen verschiedene Träger zu supponieren, wird vielleicht primär in einfacherer Art den Tatsachen gerecht, während die Lokalisation in ein einheitliches Agens durch die Heranziehung sekundärer Momente oft ein größeres Maß von Spekulation zur Erklärung beansprucht. Aber für Ehrlich bedeutet wohl einerseits in biologischer Hinsicht die unendliche Mannigfaltigkeit, in welcher die Formen der Natur und ihre Produkte in Erscheinung treten, eine selbstverständliche Prämisse, andererseits beherrscht die durch strukturchemische Betrachtung geschulte Einsicht in die verschlungenen Fäden der Beziehungen zwischen Konstitution und Wirkung zu sehr sein Denken, als daß er heterogene Wirkungen nicht zunächst durch eine komplexe Zusammensetzung des wirksamen Agens zu erklären versuchen würde. So sehen wir bei einheitlich gerichtetem Streben zur Erklärung des Prinzips der Reaktionen immer wieder die Tendenz zu einer scharfen Differenzierung des materiellen Substrates als Ursache der Vielheit von Erscheinungen. Die derartige Kombination von Einheitlichkeit in der Deutung des Mechanismus und pluralistischer Betrachtung in der Auffassung der einzelnen Formen ist zu besonderem Erfolg in der Rezeptorenlehre gelangt, ohne welche ein Verständnis des scheinbar verwirrenden Spiels der Antikörperfunktionen heute wohl kaum denkbar ist.

Wie in der Toxinlehre überhaupt, so hat auch bei der Erforschung tierischer Gifte die pluralistische Betrachtungsweise Ehrlichs einen Wegweiser dargestellt, dessen Zuverlässigkeit die Tatsachen gerade hier oft sehr prägnant erweisen konnten. Von den Arbeiten aus dem Ehrlichschen Institut ist dabei zunächst eine Studie von Szilys[32]) zu nennen, welche sich mit dem zuerst von Landsteiner und Fürth beschriebenen, die Agglutination im Verein mit Immunserum bedingenden Prinzip der Kreuzspinnengiftlösung beschäftigt, einer Komponente, die sich von dem eigentlich lytischen Toxin, dem Arachnolysin, durch eine Reihe von Einflüssen, besonders aber durch den Bindungsversuch scharf unterscheiden läßt.

[32]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **V**, 280, **1910** [597].

Eine Vielheit von Partialgiften im Schlangengift (Neurotoxin, Hämorrhagin, Agglutinin, Hämolysin) hatten bereits Flexner und Noguchi angenommen, welche ganz im Sinne Ehrlichs von einer „Polytropie" der Schlangengiftlösungen, von einer „Monotropie" der einzelnen Komponenten sprachen. Den direkten Beweis der Verschiedenheit von hämolytischem Prinzip und Neurotoxin im Kobragift konnte dann Kyes (l. c. [17]) bei dem Verfahren der Lezithiddarstellung durch räumliche Trennung der beiden Komponenten erbringen. Wird nämlich eine wäßrige Kobragiftlösung mit Lezithinchloroform ausgeschüttet, so bleibt das Neurotoxin fast quantitativ in der wäßrigen Schicht zurück, während die Lezithinase unter geeigneten Bedingungen quantitativ in die Chloroformschicht übergeht. Andererseits läßt sich nach dem Vorgang von Manwaring (l. c. [19]) aus letzterer die Lezithinase mehr oder weniger quantitativ wiedergewinnen, ohne daß dem derart erhaltenen Präparat eine wesentliche neurotoxische Funktion zukommt.

Die demgegenüber von Bang erhobenen Einwände beruhen, wie Sachs (l. c. [22]) ausführen konnte, auf einem Mißverständnis.

Von den insbesondere durch Flexner und Noguchi, Noc, Göbel, Minz, Coca u. a. beschriebenen und untersuchten Partialfunktionen des Kobragifts ist im Laboratorium Ehrlichs noch hauptsächlich die antikomplementäre Giftwirkung Gegenstand der Analyse gewesen. Im Anschluß an Arbeiten von Flexner und Noguchi, Noc, Morgenroth und Kaya, Sachs (l. c. [14]) und Braun haben sich die Untersuchungen von Omorokow[33]), Sachs und Omorokow[34]), Ritz[35]), Husler[36]) und Jonas[37]) eingehend mit der Wirkung des Kobragifts auf die Komplemente beschäftigt. Es wird jedoch bei der Besprechung der Komplementstudien Ehrlichs und seiner Schule an anderer Stelle der geeignete Ort sein, hierauf näher einzugehen.

### e) Giftmodifikationen.

Was die Modifikationen des Giftmoleküls anlangt, so nehmen in den unter Leitung Ehrlichs ausgeführten Untersuchungen über tierische Gifte die Toxoide nur einen relativ geringen Raum ein. Die Interferenz von toxoidartigen Komponenten im Arachnolysin hat sich in einer Arbeit von Sachs[38]) dadurch erweisen lassen, daß auch für die Reaktion zwischen Arachnolysin und Antiarachnolysin das sogenannte Danysz-von Dungernsche Kriterium zutrifft, indem durch fraktionierten Toxinzusatz

[33]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **X**, 285, **1911** [*493*].
[34]) Ebenda, **XI**, 710, **1911** [*567*].
[35]) Ebenda, **XIII**, 62, **1912** [*519*].
[36]) Ebenda, **XV**, 157, **1912** [*378*].
[37]) Ebenda, **XVII**, 339, **1913** [*379*].
[38]) Centralbl. f. Bakt., **XXXVII**, 251, **1904** [*544*].

zu einer gegebenen Serummenge eine weit stärkere hämolytische Kraft erzielt wird, als beim sofortigen Mischen der gesamten Giftmenge mit der gleichen Serumdosis.

Von größerem Interesse erscheinen die Toxinmodifikationen der Schlangengifte, deren eingehendes Studium sich an eine sehr interessante Beobachtung von Kyes und Sachs (l. c. [8]) anschließt. Die genannten Autoren stellten fest, daß Salzsäure nicht nur keine Abschwächung oder Zerstörung des Kobragifts herbeiführt, sondern sogar eine erhebliche Schutzwirkung auf dasselbe ausübt. Das Kobragift gewinnt im salzsauren Medium eine Koktostabilität, welche $\frac{1}{2}$ stündiges Erhitzen auf 100° ohne Einbuße an hämolytischer Kraft gestattet. Als Ursache dieses Säureschutzes haben Kyes und Sachs eine basische Natur der in Betracht kommenden Gruppe im Giftmolekül vermutet. Die hieran anknüpfende Analyse der Salzsäuremodifikation hat dann durch ausgezeichnete Arbeiten Morgenroths und seiner Mitarbeiter zu sehr interessanten Ergebnissen über das Wesen der Schutzwirkung und über die Beziehungen zwischen Toxin und Antitoxin geführt.

Erwähnt sei in diesem Zusammenhange auch die Untersuchung, welche das nach dem Kyesschen Verfahren durch Ausschütteln mit Lezithin-Chloroform isolierte Neurotoxin von anderer Seite (M. Jacoby, Salkowski-Festschrift, Berlin 1904) erfahren hat. Danach wird das derart isolierte Neurotoxin durch das von Pferden stammende Calmettesche antitoxische Serum im Gegensatz zu dem Neurotoxin des nativen Cobragifts nicht neutralisiert, während ein von Kaninchen durch Immunisieren mit dem isolierten Gift erhaltenes Immunserum sowohl gegen das native, wie auch gegen das isolierte Neurotoxin schützt.

### f) Toxin und Antitoxin.

Es ist schon erwähnt worden, daß das Danysz- von Dungernsche Kriterium, welches durch Messung der Toxin-Antitoxinreaktion die Interferenz mehrerer Toxinkomponenten von verschiedener Avidität demonstriert und für die Toxine einen fast allgemeinen Geltungsbereich besitzt, auch für die zwischen Arachnolysin und Antiarachnolysin sich abspielenden Reaktionen zutrifft (l. c. [38]). Mit der Arachnolysin-Antiarachnolysinreaktion beschäftigt sich ferner eine Arbeit von Otto und Sachs[39]), welche auch für diesen Fall das paradoxe Phänomen feststellt, daß frisch hergestellte Gemische von Toxin und Antitoxin bei Verdünnungen trotz Abnahme der absoluten Mengen zunehmende hämolytische Kraft aufweisen. Im Sinne des von Ehrlich aufgestellten Prinzips der sekundären Verfestigung der Antikörperreaktionen nimmt diese Fähigkeit beim Lagern der Gemische

[39]) Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Ther., **III**, 19, **1906** [*502*].

allmählich ab. Das Phänomen war außerdem nur mit frisch gewonnenen, nicht mit längere Zeit gelagerten Antiseris demonstrabel, ein Befund, zu dessen Erklärung Otto und Sachs an die Möglichkeit einer Interferenz labiler negativer Katalysatoren im Sinne einer Retardierung der Verfestigung denken.

Im Gegensatz zu der Mehrzahl der daraufhin untersuchten Gifte ist es bei der Reaktion zwischen Kobragift und seinem Antitoxin gleichgültig, ob man zu einer bestimmten Antitoxinmenge das Kobragift auf einmal oder in zeitlich getrennten Fraktionen zufügt (vgl. Sachs[40]), l. c. [38])). Das spricht für eine einheitliche Konstitution des hämolytischen Kobragiftprinzips und für eine starke Avidität desselben zu seinem Antitoxin. In bester Übereinstimmung mit dieser Tatsache und mit der von Ehrlich vertretenen Betrachtungsweise stehen die Untersuchungen von Kyes (l. c. [21]), nach denen bei der partiellen Absättigung von Kobragift durch Antitoxin äquivalente Antitoxinmengen stets in gleicher Weise die Toxizität reduzieren. Tatsächlich entspricht die Absättigungskurve in diesem Fall, dank der einheitlichen Beschaffenheit und der starken Avidität des Toxinmoleküls, der theoretisch zu fordernden geraden Linie. Methodisch ist dabei die aus den Untersuchungen von Kyes folgende Konsequenz wichtig, daß die Titrierung der Gemische unter einem optimalen Lezithinüberschuß erfolgt.

Absättigungsversuche, welche Kyes (l. c. [21]) unter Verwendung des Kobralezithids mitgeteilt hat, erscheinen heute nicht mehr ohne weiteres verwertbar, da es sich damals um Lezithidpräparate handelte, welche nicht frei von Kobragiftbeimengungen waren.

Schließlich sei erwähnt, daß Morgenroth am Kobragift, zumal unter Verwendung der Salzsäure-Modifikation, nach früheren Versuchen von Calmette, Martin und Cherry zum ersten Male in einwandfreier Weise zeigen konnte, daß das Toxin aus seiner Antitoxinverbindung auch nach langem Lagern quantitativ wiedergewonnen werden kann. Aus dem Institut Ehrlichs hat zu dieser Frage sodann eine Arbeit von Teruuchi[41]) beigetragen, nach dessen Untersuchungen es auch durch die Wirkung des Pankreassaftes gelingt, aus neutralen Gemischen von Toxin und Antitoxin einen Teil des Kobrahämolysins wiederzugewinnen. Neuere, im Institut Ehrlichs ausgeführte und noch nicht publizierte Untersuchungen lassen es wahrscheinlich erscheinen, daß eine Restitution des Kobragifts (Hämolysin und Neurotoxin) aus der Antitoxinverbindung nicht nur durch Säure-, sondern auch durch Alkaliwirkung mehr oder weniger gelingt.

---

[40]) Berl. klin. Wochenschr., H. 16, **1904** [*543*].

[41]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, **LI**, 478, **1907** [*599*].

So hat auch das Studium tierischer Gifte unter der Führung Ehrlichs und der ihm zu dankenden anregenden Ideen zu ergebnisreicher Erweiterung unserer Kenntnisse geführt, und vielfach konnte gerade die Heranziehung tierischer Toxine, zumal der Schlangengifte, dazu beitragen, einerseits Probleme der Immunitätswissenschaft zu klären, andererseits von Ehrlich aufgestellten Lehren experimentelle Begründung zu schaffen. In dieser glücklichen Wechselwirkung von Experiment und Theorie imponiert, wie auf zahlreichen anderen Gebieten, so auch hier der produktive und heuristische Wert von Ehrlichs Anteil an den Fortschritten der Forschung.

10.

# Antitoxinwirkung.

Von

**E. Marx,**

Frankfurt a. M.

Die Entdeckung einer Naturkraft wird immer in der Geschichte der Menschheit ein bedeutsames Ereignis sein, aber nutzbar wird sich eine solche Kraft im vollen Maße erst dann machen lassen, wenn es gelungen ist, die Gesetze zu erforschen, denen sie unterworfen ist. So ist der ungeheure Aufschwung, den die praktische Nutzanwendung der von Behring und Kitasato 1890 zunächst bei den Arbeiten mit Tetanustoxin entdeckten Antitoxine später nahm, die logische Folge der systematischen Erforschung und daraus resultierenden Erkenntnis der Konstitution der Toxine und der z. T. hieraus, z. T. aus der biologisch-chemischen Betrachtung der Zelltätigkeit abstrahierten Auffassung des Herkommens und der Wirkungsweise der Antitoxine. Hand in Hand ging damit das für das gesamte medizinische Denken, ja für die Erkenntnis des Lebens überhaupt so wichtige Eindringen in die feinsten Lebensfunktionen des Zellebens, das diese Forschungen weit über das hinaushob, was anfangs von ihnen erwartet wurde.

Streng logisch vorgehend, chemisch, biologisch und mathematisch geschult, unerschöpflich in geistreichen und zwingenden, oft die dunkelsten Geheimnisse der Natur erhellenden Hypothesen, die jeder Kritik standhielten, hat es Ehrlich verstanden, ungezählte neue Wege zu zeigen und Schranken nieder zu reißen, die bis dahin der Erkenntnis gesetzt waren. Nur ein kleiner Teil seines wissenschaftlichen Werkes, das Wesen der Antitoxinwirkungen, sei im folgenden an der Hand seiner und seiner Schüler Arbeiten dargelegt.

Alles, was von Ehrlich geschaffen ist, hat sich dank der überzeugenden Kraft, die seinen Experimenten und Deduktionen innewohnte, nach

kurzem Kampf, der natürlich nicht ausgeblieben ist, so durchgesetzt, daß eine Darstellung der Ehrlichschen Arbeiten fast undankbar erscheinen könnte: so sehr bewegen wir uns heute, und nicht am wenigsten auf dem Gebiet der Antitoxinwirkung in seinen Gedankengängen, als ob diese Großtaten experimentellen Forschens etwas ganz Selbstverständliches und immer schon Dagewesenes wären.

Den Schlüssel zum Verständnis der Antitoxine enthält schon jener Satz[1]):

„Man wird annehmen müssen, daß die Fähigkeit, Antikörper zu binden, auf Anwesenheit einer spezifischen Atomgruppe des Giftkomplexes zurückzuführen ist, die zu einer bestimmten Atomgruppe des Antitoxinkomplexes eine maximale spezifische Verwandtschaft zeigt und sich an sie leicht einfügt, wie Schlüssel und Schloß nach einem bekannten Vergleich von Emil Fischer. Die zwingende Notwendigkeit, im Toxin und Antitoxin zwei derartig aufeinander abgepaßte Gruppen anzunehmen, dürfte auch einen Hinweis geben, wie man sich die so rätselhafte Entstehung der Antitoxine am leichtesten denken könnte."

Der Ausgangspunkt für die hierin angedeutete Theorie der Antikörperbildung liegt sehr weit zurück, nämlich in den bereits 1885 in seiner Monographie „Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus" von Ehrlich mitgeteilten Anschauungen über das Wesen des funktionierenden Protoplasmas. Ehrlich nahm an, daß im Protoplasma ein Kern von besonderer Struktur die spezifisch eigenartige lebendige Zellsubstanz bedinge, „und daß an diesem Kern sich als Seitenketten Atome und Atomkomplexe anlagern, die für die spezifische Zelleistung von untergeordneter Dignität sind, nicht aber für das Leben selbst".

„Von diesen Seitenketten vermittelt ein Teil die Verbrennung durch Sauerstoffabgabe, ein Teil wird hierbei verbraucht, die Frage, in welcher Weise die Regeneration der jeweilig konsumierten Seitenketten geschehe, muß naturgemäß ein hohes Interesse erwecken, und kann man sich vorstellen, daß gewisse Orte des Leistungskernes verbrennbare Molekülgruppen fixieren können, die eben durch diese Bindung leichter der vollkommenen Verbrennung unterliegen."

Damals von wenigen beachtet, erhielten diese Vorstellungen, denen sich später, von anderen Gedanken und Wegen ausgehend, die offizielle Physiologie anschloß, den bündigsten Beweis durch das Studium der Entstehung der Antitoxine. Nur diese biologisch-chemischen Vorstellungen von der Tätigkeit der Zelle konnten die Erklärung für die Tatsache geben, daß auf relativ geringe Toxinzufuhr ein Tier meist mit der Produktion so ungeheurer Mengen spezifischen Antitoxins antwortet, Mengen, die zu dem eingeführten Giftquantum in absolut keinem quantitativen Ver-

[1]) Klin. Jahrb., **VI**, 299, **1897** [*60*].

hältnis stehen, nur diese Auffassung konnte die Giftwirkung und auch die Antitoxinwirkung im Körper und Reagenzglas erklären und tatsächlich alle Probleme lösen.

Vor allem erklärte die Annahme Ehrlichs, nach welcher die Seitenketten oder Rezeptoren des Zellprotoplasmas, welche im normalen Zellleben durch ihre chemische Verwandtschaft der Ergreifung und Assimilation von Nährstoffen dienen, auch die Voraussetzung der Verankerung und Wirkung der Toxine sind, das spezifische Gepräge der Antitoxinwirkung. Denn durch die Besetzung der Rezeptoren durch das Toxin, welche die Vorbedingung der Giftwirkung darstellt, werden eben die Rezeptoren ihrer normalen Funktion beraubt, aber nur ganz bestimmte Rezeptoren, welche den spezifischen Atomgruppierungen des Toxinmoleküls entsprechen. Durch diesen einseitigen Funktionsverlust erklärt sich dann ohne weiteres die einseitige, spezifische Regeneration und schließliche Sekretion der Rezeptoren, womit die Zelle auf den durch die spezifische Bindung elektiv charakterisierten Reiz reagiert. Und wenn dann die gleichen Rezeptoren, welche Ursache der spezifischen Giftwirkung sind, frei als Antitoxine im Blutserum auftreten, so erscheint die strenge Spezifität der Antitoxinwirkung nur mehr als ein notwendiges Postulat.

Als ein Experimentum crucis für diese Anschauung Ehrlichs galt und gilt auch noch der bekannte Wassermann-Takakische Versuch. Bekanntlich gelang es diesen Autoren, eine Tetanustoxinlösung durch Zusatz von Meerschweingehirnbrei zu entgiften. Das Experiment bestätigte so die theoretische Forderung, daß die sessilen Rezeptoren auch in vitro das von Ehrlich postulierte Giftbindungsvermögen haben. Eine weitere Ergänzung, die zugleich den Beweis für die Identität der hier in Betracht kommenden sessilen Rezeptoren mit den als Antitoxin im Blut kreisenden erbrachte, waren die Versuche von Marx[2]), der zeigen konnte, daß sich die giftneutralisierende Wirkung des Gehirnbreis und die neutralisierende Wirkung des Antitoxins einfach summieren, was wohl die Identität der beiden in Betracht kommenden Faktoren zur Genüge bewies.

Nehmen wir also als gesichert an, daß die Antitoxinwirkung eines Serums darauf beruht, daß Rezeptoren mit haptophoren Gruppen, die, sonst an der Zelle sitzend, das Toxin an diese fesseln, durch den Immunisierungsvorgang losgelöst im Serum angehäuft sind, und daß diese nunmehr das antitoxische Prinzip darstellenden Rezeptoren primär auf ein Nahrungsmittelmolekül eingestellt waren, so sind mit dieser Erkenntnis zwanglos eine große Reihe von Erscheinungen erklärt, die an

[2]) Zeitschr. f. Hygiene, **XL**, 231, **1902** [*432*].

dieser Stelle nur angedeutet werden können (vgl. hierzu Ehrlich und Morgenroth[3]).

Zunächst vor allem die für die Praxis so bedeutungsvolle Möglichkeit der Übertragung der antitoxischen Immunität und Ausnützung derselben für Heilzwecke und als prophylaktisches Mittel, zugleich gibt sie aber auch die Erklärung für den Unterschied im antitoxischen Verhalten von aktiv oder passiv Immunisierten in bezug auf die Zeitdauer des antitoxischen Vermögens des Serums. Ferner ist das Auftreten von Antitoxinen im Blut von Tier und Menschen gegen Gifte, mit denen sie nachweislich nie in ihrem Leben in Berührung gekommen sind und gekommen sein können, nur verständlich, wenn man eben zugibt, daß die als Antitoxin fungierenden Rezeptoren primär solche des normalen Ernährungsmechanismus der Zellen sind (vgl. Ehrlich[4] [5] [6]).

Analysieren wir nun die Antitoxinwirkung als solche, so wie es Ehrlichs Arbeiten gelehrt haben.

Ehrlichs Forschungen über Immunität und die uns hier besonders interessierenden Antitoxine gehen bekanntlich von seinen Studien über die Rizin- und Abrinimmunität[7] [8] aus. Schon damals, 1891, legte er eine streng-mathematische Betrachtungsweise seinen Experimenten zugrunde. („Ich habe die Möglichkeit hier in zahlenmäßiger Weise vorzugehen, voll ausgenützt und mich bemüht, die Frage der Immunität in einer mehr mathematischen Weise zu behandeln", l. c. [7] und [8]).

Auf Grund der exakten zahlenmäßigen Analyse konnte Ehrlich schon in den ersten Arbeiten über Rizin und Abrin zu wichtigen Aufschlüssen über die Entstehung, Hochtreibung und Dauer der antitoxischen Immunität, und damit zugleich zur Erkenntnis wesentlicher Unterschiede zwischen aktiver und passiver Immunität gelangen. In Konsequenz dieser quantitativen Fassung der Immunitätsprobleme ergaben sich dann die Grundlagen für die Gewinnung hochwertiger Heilsera für die therapeutische Praxis, deren Kenntnis im wesentlichen den systematischen Arbeiten Ehrlichs zu danken ist. Hierher gehört auch die Entdeckung des wellenförmigen Verlaufs der Antitoxinkurve, die Entdeckung der negativen Phase, womit gleichzeitig die Grundlagen für die auch heute noch geltenden Prinzipien der Vaccinetherapie geschaffen waren. (Vgl.

---

[3]) Handb. d. pathog. Mikroorganismen, I. Aufl., **IV**, 432, **1904** [*200*].
[4]) Deutsche med. Wochenschr., H. 50/52, **1901** [*71*].
[5]) Therapie der Gegenwart, N. F., III, 193, **1901** [*72*].
[6]) Münch. med. Wochenschr., H. 33/34, **1903** [*81*].
[7]) Deutsche med. Wochenschr., H. 32, **1891** [*49*].
[8]) Ebenda, H. 44, **1891** [*50*].

hierzu besonders die Arbeiten Ehrlichs in Gemeinschaft mit Brieger, Kossel und Wassermann[9] [10] [11] [12] [13]).

Natürlich brachten Ehrlich seine ersten Versuche mit Rizin und Abrin noch keine völlige Klarheit über die Art der Wirkung der Antitoxine auf die Toxine, doch erkannte er sofort, daß es sich nicht, wie von anderer Seite angenommen wurde, um eine einfache Umstimmung des Körpers handelte, sondern um das Auftreten eines Stoffes im Blut, der das Gift, gegen das Immunität erzielt war, direkt angriff. „Alle diese Erscheinungen beruhen, wie sich leicht nachweisen läßt, darauf, daß im Blut ein Körper — das Antiabrin — vorhanden ist, welcher die Wirkung des Abrins vollkommen paralysiert — wahrscheinlich durch Zerstörung dieses Körpers" (l. c. [8]).

Eine vollkommene Bestätigung dieser Auffassung von der direkten Wirkung des Antitoxins auf das Toxin erbrachte dann der von Ehrlich eingeführte Reagenzglasversuch[14]). 1897 konnte so Ehrlich bei seinen weiteren Studien über Rizinimmunität den Beweis erbringen, daß sich Gift und Gegengift direkt beeinflussen. Ehrlich konnte damals zeigen, daß die agglutinierende Wirkung des Rizins auf rote Blutkörperchen ausblieb, wenn das Rizin vorher mit Immunserum behandelt worden war. Es ging daraus also, zumal im Reagenzglas und innerhalb des Tierkörpers quantitative Übereinstimmung bestand, hervor, daß mit der Wirkung Toxin-Antitoxin der Organismus zunächst gar nichts zu tun haben konnte, sondern daß eine direkte Einwirkung von Gift und Gegengift in der Weise stattfand, daß das Gift durch das Gegengift direkt entgiftet wurde, und dies konnte nur so geschehen sein, daß hier zwei chemische Körper aufeinander wirkten, und das Resultat dieser Einwirkung eine ungiftige Verbindung war.

Dieser von Ehrlich zuerst geführte Nachweis der Entgiftung eines Hämotoxins durch das entsprechende Antitoxin im Reagenzglasversuch konnte dann bei den zahlreichen Blutgiften von Toxincharakter, mit denen uns die Immunitätsforschung bekannt gemacht hat, immer wieder bestätigt werden. Es seien hier nur die gleichsinnigen Untersuchungen aus Ehrlichs Laboratorium über Crotin (Morgenroth, vgl. Ehrlich[15]))

---

[9]) Ebenda, H. 18, **1892** [*171*].
[10]) Zeitschr. f. Hygiene, **XIII**, 336, **1893** [*172*].
[11]) Deutsche med. Wochenschr., H. 16, **1894** [*185*].
[12]) Hyg. Rundschau, H. 24, **1894** [*58*].
[13]) Zeitschr. f. Hygiene, **XVIII**, 239, **1894** [*212*].
[14]) Fortschr. d. Med., **XV**, 41, **1897** [*61*].
[15]) Berliner klin. Wochenschr., S. 273, **1898** [*63*].

Tetanolysin (Madsen[16])), Staphylotoxin (Neißer und Wechsberg[17])), Phrynolysin (Pröscher[18])) und Arachnolysin (Sachs[19])) genannt.

Dem etwa möglichen Einwand, daß doch immerhin mit lebenden Zellen, den roten Blutkörperchen, gearbeitet wurde, so daß es also doch nicht ganz ausgeschlossen werden konnte, daß die Wirkung Toxin-Antitoxin erst über die Zellen ging, konnte Ehrlich zunächst damit begegnen, daß er zeigte, daß das Toxin nur auf die Zellstromata reagierte, und daß auch die Wirkung auf die Stromata durch das Antitoxin aufgehoben wurde. Blieb nun wirklich noch ein Zweifel, so muß dieser den Versuchen Morgenroths[20]) [21]) gegenüber völlig aufgegeben werden. Morgenroth immunisierte mit Labferment und erhielt so ein Reaktionsprodukt, das die Wirkung des Labs genau so aufhob, wie das Antirizin die Wirkung des Rizins paralysierte. (Vgl. hierzu auch die aus Ehrlichs Laboratorium hervorgegangenen Arbeiten von Korschun[22]) [23]) über Lab und Antilab und Sachs über Antipepsin[24])).

Da hier nun zelluläre Elemente ausgeschlossen waren, so konnte sich niemand mehr der Tatsache verschließen, daß entsprechend der Ehrlichschen Annahme das Antitoxin das Toxin direkt ohne jeden Umweg über irgendwelche Körperzellen beeinflußt, daß es sich hier also um einen chemischen Prozeß handeln muß.

Weitere Klärung über die Wirkungsweise der Antitoxine brachten dann vor allem die in erster Linie für die Erkenntnis der Toxine grundlegenden Arbeiten Ehrlichs über die Konstitution des Diphtheriegiftes, zu denen ihn die Schwierigkeiten der Bemessung des Diphtherieantitoxins bei der staatlichen Prüfung nötigten (l. c. [1]) [25]). Daß es sich bei der Aufhebung der Giftwirkung eines Toxins durch sein Antitoxin um einen chemischen Vorgang handelt, war ja sichergestellt, damit war aber noch keineswegs die Frage gelöst, wie sich denn das Phänomen chemisch deuten ließe. Handelt es sich um eine Zerstörung des Giftmoleküls, wie Ehrlich ursprünglich anzunehmen geneigt war, oder um eine chemische Verbindung? Hier war es denn der Tierversuch, der weitere Aufklärung brachte. Ehrlich suchte diesen Neutralisationsvorgang der Entgiftung nach physio-

[16]) Zeitschr. f. Hygiene, **XXXII**, 214, **1899** [*414*].
[17]) Ebenda, **XXXVI**, 299, **1901** [*489*].
[18]) Beitr. z. chem. Phys. u. Pathol., **I**, 575, **1902** [*508*].
[19]) Ebenda, **II**, 125, **1902** [*537*].
[20]) Centralbl. f. Bakteriol., **XXVI**, 349, **1899** [*445*].
[21]) Ebenda, **XXVII**, 721, **1900** [*446*].
[22]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, **XXXVI**, 141, **1902** [*389*].
[23]) Ebenda, **XXXVII**, 366, **1903** [*390*].
[24]) Fortschr. d. Med., **XX**, 425, **1902** [*539*].
[25]) Deutsche med. Wochenschr., H. 38, **1898** [*62*].

logisch-chemischen Prinzipien zu analysieren, indem er die Methode der partiellen Absättigung in dies Forschungsgebiet einführte. „Wenn ein Gemisch verschieden starker Säuren, z. B. Salz- und Essigsäure, allmählich mit einem Alkali abgesättigt wird, geht dasselbe in den Hauptmengen zuerst an die Säuren von stärkerer Avidität, also die Salzsäure, und dann erst an die schwächere Essigsäure. Analoge Erfahrungen habe ich bei der partiellen Sättigung des Diphtheriegiftes gemacht" (l. c. [4], [5], [6]).

Diese Versuche der partiellen Sättigung, die in erster Linie die Kompliziertheit des Baues des Diphtheriegiftes zeigten und das Problem der Konstitution des Giftmoleküls lösten, ergaben aber als unumstößlich, daß bei Berücksichtigung des Diphtheriegiftes als einer nicht einheitlichen Substanz und Ausschaltung der durch eine unitarische Auffassung entstehenden Fehler die Entgiftung in einer chemischen Bindung beruht und zwar einer Bindung von Toxin und Antitoxin, die sich absolut in den Verhältnissen einer reinen Äquivalenz abspielt und dem Gesetz der Multipla folgt. Wenn also x Toxin durch y Antitoxin nicht nur scheinbar, sondern wirklich abgesättigt wird, so werden auch z. B. 10 x Toxin durch 10 y Antitoxin neutralisiert. Die Vereinigung von Gift und Gegengift folgt im Prinzip denselben Gesetzen, wie die Absättigung einer Säure durch eine Base, selbstverständlich im Prinzip, denn die Toxine sind eben keine einheitlichen, sondern hochkomplizierte Körper und Gemische verschiedenster chemischer Avidität. Nur bei dieser chemischen Vorstellung ist überhaupt dieses einfache proportionale Verhältnis von Toxin-Antitoxin verständlich, nicht aber können diesen Vorgang, zumal bei dessen spezifischem Charakter, wie es versucht wurde, die Erfahrungen der Kolloidchemie erklären.

Erwähnt sei hier, daß die Arbeiten von Arrhenius und Madsen sich nicht etwa gegen diese Ehrlichsche Auffassung richteten, daß die Toxinentgiftung durch das Antitoxin ein rein chemischer Vorgang einer Neutralisation ist. Diese Forscher glaubten aus der partiellen Absättigung nur andere Schlüsse über die Konstitution des Toxins ziehen zu müssen. Die Erörterung dieser Einwände und deren Zurückweisung würde daher den Rahmen dieses Abschnittes überschreiten (vgl. hierzu [26]) [27])).

Diese für das ganze Problem so wichtige Erkenntnis, daß sich Toxin und Antitoxin in äquivalenten Verhältnissen vereinigen, ist einzig und allein durch die jahrelangen Arbeiten Ehrlichs zu einer absolut gesicherten geworden. Gerade der Beginn der Toxinstudien schien diese Verhältnisse und damit die Natur der chemischen Verbindung nicht zu bestätigen. In einem Brief an Arrhenius (l. c. [27]) schrieb Ehrlich über dieses Ringen des Forschers:

[26]) Berliner klin. Wochenschr., H. 35/37, **1903** [*80*].

[27]) Ebenda, H. 9, **1904** [*84*]; vgl. auch Ehrlich u. Sachs, Leipzig 1905 [*207*].

„Als ich dann an die Toxinerforschung überging, mich durch Versuche von dem chemischen Charakter überzeugt hatte, da stand auf einmal das große Rätsel da, daß sich diese Verbindungen nicht dem Gesetze der Äquivalenz unterordnen wollten, das ich durch die Existenz der Toxoide auflöste."

Erst als Ehrlich die Existenz von Toxoiden nachgewiesen hatte, d. h. von Toxinmolekülen, die ihre haptophore Gruppe erhalten, aber ihre toxophore verloren hatten, eine Entdeckung, die nur durch die so überaus scharfsinnigen Versuche der partiellen Giftabsättigung möglich war, konnte der stringente Beweis erbracht werden, daß die Verbindung Toxin-Antitoxin sich entsprechend den chemischen Anschauungen Ehrlichs völlig den Gesetzen der Äquivalenz unterordnete.

Als ein chemischer Vorgang folgt die Neutralisation des Toxins durch das Antitoxin auch den Gesetzen, die wir sonst bei chemischen Reaktionen zu sehen gewohnt sind, d. h. sie ist von der Konzentration der Lösung und der Temperatur abhängig. Selbstverständlich ist jedes Toxin und Antitoxin als Individuum für sich zu betrachten, und es ist klar, daß, wenn z. B. die Vereinigung von Diphtherietoxin und Antitoxin relativ schnell erfolgt, dies nicht ohne weiteres auch für andere Toxine, wie das Tetanustoxin, gelten muß. Im Gegenteil, hier ergaben sich sehr bald große Differenzen. Allgemein gilt aber für alle diese Reaktionen, daß sie um so schneller verlaufen, je konzentrierter und relativ wärmer die Lösung ist. Während aber die Tierversuche lehrten, oder, wie wir noch sehen werden, zu lehren schienen, daß die Vereinigung von Diphtherietoxin und Antitoxin blitzschnell in vitro bei geeigneter Konzentration und Temperatur erfolgt, so fand man bald, daß z. B. beim Tetanustoxin eine erheblichere Zeitdauer für die Vereinigung mit dem Antitoxin und Bildung des neutralen Reaktionsproduktes nötig ist.

Daß aber auch die Annahme einer sofortigen Vereinigung von Diphtherietoxin und Antitoxin in vitro nicht zutreffend war, konnte Morgenroth[28]) [29]) in Ehrlichs Laboratorium nachweisen gelegentlich einer Nachprüfung von Versuchen von Dreyer und Madsen, die gefunden hatten, daß ein für Meerschweinchen neutrales Gemisch von Diphtherietoxin und Antitoxin noch für das Kaninchen wirksames Gift enthielt. Morgenroth konnte zwar bestätigen, daß Gemische, die im üblichen subkutanen Versuch beim Meerschweinchen neutral erschienen, bei intravenöser Injektion toxisch für Kaninchen waren, aber er zeigte dann, daß in die Blutbahn gebracht ein solches Gemisch auch auf Meerschweinchen giftig wirkt. Wurden diese Gemische aber 50—60 Minuten im Wasserbad bei 40° gehalten und dann noch 24 Stunden im Brutschrank bei 20°

[28]) Berliner klin. Wochenschr., H. 20, **1904** [*454*].
[29]) Zeitschr. f. Hygiene, **XLVIII**, 177, **1904** [*455*].

digeriert, so waren sie auch in die Blutbahn eingeführt für Meerschweinchen und Kaninchen gleich ungiftig. Also auch hier wieder der maßgebende Einfluß der Temperatur und der Zeit auf den Ablauf eines chemischen Prozesses!

Der Versuch lehrte so, daß die Vereinigung von Toxin und Antitoxin auch bei Diphtheriegift nicht so blitzschnell vor sich geht, wie man bis dahin glaubte, sondern relativ viel Zeit in Anspruch nimmt, ferner weist er auf ein merkwürdiges Verhalten des Meerschweinchenbindegewebes hin. Da die Versuche von Marx[30]) gezeigt hatten, daß das subkutane Bindegewebe des Meerschweinchens in den ersten 3 Stunden Diphtheriegift so bindet, daß selbst sehr große Heildosen die örtliche Reaktion nicht aufhalten oder reparieren können, so kann die Neutralisation des Giftes im subkutanen Gewebe des Meerschweinchens nicht erst, wie in vitro, in 24 Stunden erfolgen, sondern muß sich dort tatsächlich sehr schnell vollziehen. Es müssen also hier Faktoren in Erscheinung treten, die eine katalytische Beschleunigung des Bindungsvorgangs herbeiführen.

Ganz ähnliche Befunde sind dann von Otto und Sachs[31]) bei dem Studium der Reaktion des Botulismusgiftes mit dem Antitoxin erhoben worden. In ihren Versuchen, die sich auch auf die Arachnolysin-Antiarachnolysinverbindung erstreckten, ergab sich auch die Interferenz von katalytischen Einflüssen negativer Art als wahrscheinlich. Bei der Analyse der bereits durch v. Behring und Madsen beobachteten Dissoziationserscheinungen, welche darin bestehen, daß Bruchteile eines Toxin-Antitoxingemisches viel giftiger sein können, als die Gesamtmenge, zeigte es sich nämlich, daß diese Dissoziation mit alten aufbewahrten Seris oftmals nicht gelingt. Gleichzeitig ergaben die Versuche von Otto und Sachs, daß das etwa dem Vorgang einer hydrolytischen Dissoziation in erster Linie entsprechende Phänomen mit dem Lagern der Gemische abnimmt.

Die erörterten Feststellungen bilden zugleich eklatante Bestätigungen für das von Ehrlich frühzeitig erkannte Prinzip der sekundären Verfestigung, das sich für das Verständnis der Toxin-Antitoxinreaktionen von größtem Wert erwiesen hat.

Die Verbindung Toxin-Antitoxin ist, wie wir jetzt wissen, ursprünglich noch reversibel, wird dann aber praktisch irreversibel. Daß aber tatsächlich eine solche Verbindung zustandekommt, konnte, ganz abgesehen von dem oben erörterten Umstand, daß nach einer gewissen Zeit solche Verbindungen für jedes Tier und für jede Applikationsart ungiftig sind, noch von anderer Seite auf physikalisch-chemischen Weg

[30]) Zeitschr. f. Hygiene, **XXXVIII**, 372, **1901** [*430*].

[31]) Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therap., **III**, 19, **1906** [*502*].

nachgewiesen werden. Martin und Cherry zeigten bekanntlich, daß aus Diphtherietoxin-Antitoxingemischen, die zwei Stunden gestanden hatten, durch Gelatinefiltration kein Toxin mehr zu gewinnen ist, obgleich das Toxin im Gegensatz zum Antitoxin den Filter passiert. Das Toxin muß also mit dem Antitoxin eine Verbindung eingegangen haben, deren Molekulargröße nun natürlich die des Toxins übertrifft.

Daß aber diese Verbindung immerhin noch getrennt werden kann, konnte zunächst Morgenroth (Berl. klin. Wochenschr. 1905) dartun, dem es gelang, durch Behandlung mit Salzsäure aus einer neutralen Mischung von Kobragift und Antitoxin das Kobragift abzuspalten und quantitativ wieder zu gewinnen. Terruuchi[32]) konnte dann in Ehrlichs Institut zeigen, daß diese Möglichkeit der Abspaltung und Wiedergewinnung des Kobragiftes aus seiner neutralen Antitoxinverbindung auch durch Trypsinverdauung gegeben ist.

Eine auf den ersten Blick paradoxe Wirkung des Antitoxins bot das sog. Danyszsche Phänomen dar. Danysz hatte mit Rizin gearbeitet und konnte feststellen, daß, wenn man die äquivalenten Verhältnisse von Toxin und Antitoxin nicht auf einmal zusammenbringt, sondern erst die halbe Toxindosis dem Antitoxin zusetzt und später die zweite Hälfte hinzufügt, diese nicht völlig entgiftet wird, sondern bis zur Neutralisation noch weitere Antitoxinfuhr nötig ist. Oder, kurz ausgedrückt, Toxin-Antitoxingemische werden giftiger, wenn das Toxin zu der gleichen Antitoxinmenge in zeitlich getrennten Fraktionen zugesetzt wird. v. Dungern[33]) und Sachs[34])[35]) konnten zeigen, daß dieses Danyszsche Phänomen mit Ausnahme des Kobrahämolysins anscheinend für alle Toxin-Antitoxingemische zutrifft, auch für das Gemisch Lab-Antilab (Sachs). Das Phänomen erklärt sich, wie von Dungern zeigte, einfach dadurch, daß in den Toxingemischen auch Giftmodifikationen mit kleineren Affinitäten zum Antitoxin vorhanden sind, als das eigentliche Toxin, deren Antitoxinverbindungen aber gleichwohl die sekundäre Verfestigung erfahren. Die Toxine sind eben nicht, wie Ammoniak und Borsäure, einheitliche Substanzen, sondern äußerst kompliziert zusammengesetzt. Diese Untersuchungen gaben den Schlüssel dafür ab, weshalb das Danyszsche Phänomen nicht bei dem Kobragift beobachtet werden kann. Im Gegensatz zu all den Toxinen, für die das Phänomen zutrifft, erfolgt beim Kobragift die Absättigung nicht in einer Kurve, sondern in einer ge-

[32]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, **LI**, 478, **1907** [*599*].
[33]) Deutsche med. Wochenschr., H. 8/9, **1904** [*341*].
[34]) Berliner klin. Wochenschr., H. 16, **1904** [*543*].
[35]) Centralbl. f. Bakteriol., **XXXVII**, 251, **1904** [*544*].

raden Linie, so daß die Voraussetzungen für das Danyszsche Phänomen fehlen (vgl. Kyes[36]).

Fassen wir nochmals zusammen, so ergab sich, daß die Folge einer Vereinigung von Toxin und Antitoxin nicht eine Giftzerstörung, sondern das Entstehen einer neuen neutralen Verbindung ist, die keineswegs als reversibel bezeichnet werden kann, wenn sie auch nicht so absolut irreversibel ist, wie es anfangs erschien. So sagt Ehrlich[37]):

„Ich bin weit entfernt, das Vorhandensein einer gewissen Reversibilität bei den sich zwischen Antigenen und Antikörpern abspielenden Reaktionen in Abrede zu stellen oder die Mitwirkung des Massenwirkungsgesetzes, das ja als solches ein allgemeines Naturgesetz darstellt, zu leugnen. Ich bestreite nur, daß die Reaktionen vollkommen reversibel sind, und glaube aus mannigfachen Erfahrungen schließen zu dürfen, daß das Charakteristikum der Neutralisationserscheinungen und der von Antigenen und Antikörpern ausgeübten Wirkungen in vivo in einer sekundären Verfestigung besteht. Dieses Prinzip der sekundären Verfestigung stellt nicht etwa eine nachträglich angenommene Hilfshypothese dar, sondern ergibt sich bereits mit aller Evidenz aus den im Jahre 1898 angestellten Untersuchungen von Dönitz."

Tatsächlich sprechen die hier von Ehrlich zitierten Dönitzschen Heilversuche[38]) [39]) [40]) mit aller Evidenz für die allmähliche sekundäre Verfestigung der Toxinverbindungen. Dönitz arbeitete mit Diphtherie- und Tetanusgiftlösungen, die er intravenös injizierte. Er konnte zeigen, daß die Bindung mindestens einer tödlichen Dosis an die Zellrezeptoren sehr schnell erfolgte, daß dann aber bei nachfolgender Antitoxininjektion die zur Giftneutralisation erforderliche Antitoxinmenge sehr rasch zunimmt, daß also mit einer gegebenen Antitoxindosis nur eine ganz kurze Spanne Zeit die Bindung Toxin-Zellrezeptor lösbar ist und dafür die Verbindung Toxin-Freie Rezeptoren eintritt. Nach einer gewissen Zeit aber versagen auch die größten Antitoxinmengen, die Bindung ist sekundär so verfestigt, daß weder größere Avidität noch Massenwirkung zahlreicher Antitoxinmoleküle eine Reversibilität herbeiführen können.

Im gleichen Sinne sprechen auch die Untersuchungen Morgenroths[41]) über den Tetanus des Frosches. Danach nimmt nämlich nach Tetanusgiftinjektionen in der Kälte die wirksame Antitoxindosis mit dem Zeitintervall zwischen Toxin- und Antitoxineinverleibung sehr rasch zu, obwohl der Frosch in der Kälte dem Tetanustoxin gegenüber refraktär ist, vielmehr erst nach dem Überführen in höhere Temperatur der Vergiftung

[36]) Berliner klin. Wochenschr., H. 19, **1904** [*400*].
[37]) Handb. d. Immunitätsforsch., **I**, 1, **1907** [*98*].
[38]) Deutsche med. Wochenschr., H. 27, **1897** [*334*].
[39]) Arch. internat. de pharmakodynamie, **V**, 425, **1899** [*336*].
[40]) Klin. Jahrbuch, **VII**, 359, **1899** [*337*].
[41]) Arch. internat. de pharmacodynamie, **VII**, 265, **1900** [*447*].

erliegt. Lediglich das Moment der Toxinbindung, nicht dasjenige der Wirkung ist also hier für den Antitoxinbedarf maßgebend.

Immerhin hatten aber die Versuche von Dönitz gezeigt, daß auch eine Heilwirkung im eigentlichen Sinne möglich ist, und als praktisch bedeutsame Konsequenzen ergaben sich aus ihnen die auch heute noch für die Serumtherapie wichtigsten Grundsätze, das Heilserum möglichst rasch und in möglichst großer Dosis zu injizieren. In völliger Übereinstimmung mit den Versuchen von Dönitz stehen die Heilversuche im Reagenzglas, welche Madsen[42]) im Ehrlichschen Institut mit Tetanolysin ausgeführt hatte, und deren Beurteilung die leicht übersichtlichen Verhältnisse der von Ehrlich geschaffenen Reagenzglasmethode zugute kamen.

Daß auch unter den durch die erörterten Verhältnisse begrenzten Bedingungen des Heilversuchs die Serumwirkung dem nach der Methode Ehrlichs bestimmten Antitoxingehalt proportional ist, zeigten die Untersuchungen von Marx (l. c. [30]) und Berghaus[43]) [44]) [45]), welche gegenüber von anderer Seite erhobenen Einwänden immer wieder die bestehende Übereinstimmung zwischen Heilwirkung und Antitoxingehalt dartun konnten im Sinne der von Ehrlich geschaffenen Fundamente des Verständnisses der Antitoxinwirkung. Wir erkennen in ihr im Prinzip nur die für den Organismus heilsame Verteilung, die Ablenkung des Giftes von den gefährdeten Zellen durch jene Produkte biologischer Reaktionsfähigkeit, bei deren Wirkung, wie Ehrlich[46]) [47]) [48]) es ausdrückt, „das distributive Prinzip in idealer Weise verkörpert ist", so daß sie „ihr Ziel, wie die Freikugeln des Freischütz treffen".

[42]) Zeitschr. f. Hygiene, **XXXII**, 239, **1899** [*415*].
[43]) Centralbl. f. Bakteriol., **XLVIII**, 450, **1908** [*284*].
[44]) Ebenda, **XLIX**, 281, **1909** [*286*].
[45]) Ebenda, **L**, 87, **1909** [*287*].
[46]) Internat. Wochenschr. f. Wissensch. usw., H. 4, **1907** [*94*].
[47]) Münch. med. Wochenschr., H. 5, **1909** [*109*].
[48]) Beitr. z. experim. Pathol. u. Chemotherap., S. 3, **1909** [*99*].

11.

# Cytophile Antikörper.

Von

**H. Sachs,**

Frankfurt a. M.

Als im Jahre 1898 Bordet zeigen konnte, daß die Gesetzmäßigkeiten, welche durch die Untersuchungen von Pfeiffer, Metschnikoff und Bordet für die spezifische bakteriolytische Wirkung der Immunsera erkannt worden waren, auch für die Auflösung der roten Blutkörperchen durch entsprechende hämolytische Immunsera gelten, mußten sich der Betrachtungsweise Ehrlichs reizvolle Perspektiven der Forschung ergeben. Dem Begründer der Seitenkettentheorie, welche ja das distributive Moment als wesentlichen Vermittler der Antikörperwirkung in den Vordergrund stellt, konnten bereits die bakteriolytischen Serumwirkungen von besonderem Interesse erscheinen. Denn durch das Zusammenwirken aus dem eigentlichen thermostabilen Antikörper (Ambozeptor) und einer zweiten thermolabilen normalen Komponente (Komplement) war die Möglichkeit gegeben, die Analyse der Antikörperverteilung von derjenigen der Antikörperwirkung in experimentell-einwandfreier Weise zu trennen. Nur waren die Bakterien nicht das geeignete Objekt zu zahlenmäßiger, quantitativer Arbeit, wie sie Ehrlich vom Beginn seiner Immunitätsstudien ab bevorzugen zu sollen geglaubt hat. Durch die Mitteilung Bordets war es aber möglich geworden, die Bakterien durch die leicht dosierbaren und ihre Schädigung durch den hämolytischen Prozeß sinnfällig verratenden roten Blutkörperchen zu ersetzen. Das Studium der Hämolyse bot daher die willkommene Gelegenheit, den Mechanismus der zellschädigenden Serumwirkungen in exakter Weise zu ergründen und dadurch gleichzeitig einen Einblick in die Wirkungsart der analogen bakteriolytischen Antikörper zu erhalten. Die Konsequenz dieses Arbeitsprogramms waren zunächst die sechs grund-

legenden Mitteilungen über Hämolysine, durch welche Ehrlich[1] [6]) in Gemeinschaft mit Morgenroth eine Fülle von Tatsachen und neuen Fragestellungen schuf.

In diesen Arbeiten ist zu gleicher Zeit im wesentlichen die Methodik entstanden, welche seitdem für die Untersuchung der Hämolysinwirkungen und der Antikörperreaktionen im allgemeinen maßgebend ist. Die methodologische Erschließung des Gebietes imponiert dabei in ihrem innigen Zusammenhang mit der theoretischen Betrachtungsweise Ehrlichs. Sie zeigt, wie es Morgenroth[7]) bei der Beschreibung der „Methodik der Hämolysinuntersuchung" ausdrückt, wie „eine auf Grund einer umfassenden Theorie aufgebaute, zielbewußt ausgestaltete Methodik das analytische Eindringen in ein Gebiet ermöglicht, das den Methoden der Chemie bis jetzt so gut wie ganz verschlossen blieb".

Die Analyse der Antikörperwirkungen im Reagenzglase bot der Eigenart Ehrlichs die gleichen Vorteile, die er auch bei der Bearbeitung anderer Gebiete, so insbesondere in der Geschwulstforschung und in den chemotherapeutischen Studien so erfolgreich zu verwerten wußte. Die große Einfachheit in der Anordnung der Versuche und die hierdurch ermöglichte weitgehende Variation in den Versuchsbedingungen führten zu einer raschen Anhäufung eines vielfältigen Tatsachenmaterials, und als besonderer Vorteil kam bei den Reagenzglasversuchen noch die rasche Bestimmbarkeit des Ergebnisses hinzu. Aber Ehrlich begnügte sich nicht mit der qualitativen Feststellung der Phänomene, sondern führte, seiner Gedankenrichtung entsprechend, die quantitative Methodik ein, welche besonders in der Hämolysinforschung den Reihenversuch und damit Massenuntersuchungen in vitro erforderlich machte. Der Erweiterung und Erschwerung der technischen Arbeit stand dabei als Äquivalent die Möglichkeit klarer Beurteilung gegenüber, welche eine in rascher Folge sich mehrende Übersicht über die Funktionen der reagierenden Stoffe und über ihre gegenseitigen Beziehungen gestattete. Das technische und methodologische Rüstzeug wurde in dem Maße, wie es die aus der Theorie sich ergebenden Fragestellungen erforderlich machten, beschafft; um nur einige Beispiele zu erwähnen, die Immunisierungsmethoden, Gewinnung und Konservierung von Serum- und Blutauf-

[1]) Berl. klin. Wochenschr., H. 1, **1899** [*192*].
[2]) Ebenda, H. 22, **1899** [*193*].
[3]) Ebenda, H. 21, **1900** [*194*].
[4]) Ebenda, H. 31, **1900** [*195*].
[5]) Ebenda, H. 10, **1901** [*196*].
[6]) Ebenda, H. 21/22, **1901** [*197*].
[7]) In Ehrlichs: Gesammelte Arbeit. zur Immunitätsf., S. 461, **1904** [*456*].

schwemmungen, die zahlenmäßige Ermittlung der hämolytischen Wirkungen, die quantitative Bestimmung von Ambozeptor, Komplement und von antihämolytischen Funktionen und vor allem der Bindungsversuch. Wenn heute die Methodik der Hämolysinuntersuchung in Form des Komplementbindungsverfahrens und insbesondere der Wassermannschen Reaktion allgemeinen Eingang in die Laboratorien gefunden hat, so ist das neben der theoretischen Ergründung der Phänomene nicht zum wenigsten auch der sicheren quantitativen experimentellen Methodik zu danken, welche Ehrlichs Arbeiten diesen Gebieten verliehen haben.

Neben der quantitativen Behandlung der Erscheinungen ist in den Hämolysinstudien Ehrlichs besonders hervorstechend das Streben nach mannigfacher Variation in der Wahl der Tierart. Ebenso wie ihn bei seinen Immunitätsstudien der Zusammenhang von Physiologie und Pathologie des Zelllebens als ein Grundprinzip geleitet hat, so ist ihm wohl auch die für die naturwissenschaftliche Forschung im allgemeinen so wichtige vergleichende Arbeitsmethodik bei der Ergründung der Immunitätsprobleme als eine Notwendigkeit erschienen, und der in dieser Richtung vorgenommenen breiten biologischen Analyse verdanken wir das pluralistische Prinzip der Betrachtung, das insbesondere durch die Konzeption des Rezeptors ein tieferes Eindringen in die verwickelte Erscheinungswelt und ihre Ursachen ermöglicht hat. Die plastische Art, mit der Ehrlich die Vielfältigkeit der Ausgangsformen des Experiments in einfache Darstellung zu fixieren wußte, war dabei besonders für Schüler und Mitarbeiter von unmittelbarem, nicht zu unterschätzendem Werte. Es sei erinnert an die von ihm gern benutzte Art der bildlich-schematischen Skizzierung der reagierenden Stoffe, welche, auch wenn man ganz von dem Werte der theoretischen Betrachtung absieht, didaktisch und heuristisch vorzüglich fördern mußte. So war in den Jahren, in denen Ehrlich selbst seine anregende Arbeit mit aller Konzentration den Hämolysinstudien widmete, in seinem Laboratorium für jede Tierart eine eigene Farbe bestimmt, welche die figürlichen Entwürfe der Blutkörperchen, Ambozeptoren, Komplemente usw. ihrer Herkunft nach illustrierte. Durch das Einzeichnen des Erythrocytenschemas von entsprechender Farbe in das bekannte, den Ambozeptor darstellende, Gebilde als Ausdruck der Immunisierungsart und durch ähnliche Formen graphischer Wiedergabe der Versuchsbedingungen war es dem Mitarbeiter im Moment ermöglicht, die Kombination, um die es sich handelte, zu übersehen, ein Vorteil für die rasche Orientierung, der aber nur ein Beispiel jener umfassenden und doch ökonomischen Methodik des Arbeitens und Denkens darstellt, die für Ehrlich charakteristisch ist und ihn nicht nur zum sicheren Gestalter, sondern auch zum Lehrer des Experiments macht.

I.

Für die Anordnung der ersten grundlegenden Versuche über Hämolysine waren die Konsequenzen maßgebend, welche sich aus der Seitenkettentheorie ergaben. Nach dieser Konzeption muß ja der Antikörper eine bindende Atomgruppierung besitzen, welche in die haptophore Gruppe des Antigens eingreift. Während nun bei den gelösten Antigenen die Neutralisation zwischen Antigen und Antikörper in Lösung erfolgt und daher bei den vorher meist studierten Toxinen zunächst nur an der Ungiftigkeit des Gemisches kenntlich ist, wird durch das Anhaften der die Antigenwirkung bedingenden Bestandteile an zellige und daher zentrifugable Elemente die Möglichkeit gegeben, das Antigen wieder aus dem Reaktionsgemisch zu entfernen. Entsprach die Seitenkettentheorie den Tatsachen, so mußte der Flüssigkeit mit dem Antigen auch der Antikörper entzogen sein. So entstand der „Bindungsversuch", welcher der experimentellen Erforschung der Antikörperreaktionen eine neuartige Methodik verlieh (l. c. [1]).

Wurden Blutkörperchen mit inaktiviertem (½ Stunde auf 55° erhitzten) Immunserum digeriert und sodann durch Zentrifugieren von der Flüssigkeit getrennt, so war der Abguß auch bei Zusatz von normalem Serum (also der thermolabilen und von Ehrlich und Morgenroth zunächst als „Addiment" bezeichneten Komponente) nicht mehr imstande, rote Blutkörperchen aufzulösen. Das nach dem Zentrifugieren erhaltene Blutsediment löste sich aber im Gegensatz zu dem Verhalten normaler Blutkörperchen bereits auf Zusatz von normalem Blutserum (als Addiment).

Der im Immunserum enthaltene Antikörper („Immunkörper") war von den Blutkörperchen gebunden und der Flüssigkeit entrissen worden. Als weiteres Ergebnis konnte gleichzeitig mitgeteilt werden, daß diese Bindung des Immunkörpers in weiten Grenzen unabhängig von der Temperatur ist und auch bei 0° erfolgt. Die Spezifität und damit die chemische Art dieses Bindungsprozesses wurde aus Kontrollversuchen unter Heranziehung anderer Blutarten gefolgert.

Mit der gleichen Methodik des Bindungsversuchs stellten Ehrlich und Morgenroth fest, daß das „Addiment" im Gegensatz zum Immunkörper keinerlei Beziehungen zu den roten Blutkörperchen besitzt. Weiterhin wurde erkannt, daß ein Gemisch von Immunkörper und Addiment bei niedriger Temperatur (0—3°) nicht hämolytisch wirkt, und daß bei einer Trennung eines solchen Gemisches durch Zentrifugieren die Blutkörperchen sich mit Immunkörper beladen erweisen, während das Addiment in der Flüssigkeit zurückbleibt. Aus diesem sog. „Kältetrennungsversuch" ergab sich zu gleicher Zeit die Schlußfolgerung, „daß unter den gewählten Versuchsbedingungen Addiment und Immunkörper unabhängig von einander in der Flüssigkeit bestehen". Die gelungene räumliche

Trennung der beiden Komponenten aus dem Gemisch erwies zugleich die komplexe Konstitution des wirksamen Lysins in einwandsfreier Weise.

Bei Ausführung der Bindungsversuche mit hämolytischen Gemischen von Immunkörper und Addiment bei höheren Temperaturen, wobei wegen des Eintritts der Hämolyse die Zeitdauer der Digestion kurz bemessen werden mußte, ergab sich nun, daß das derart erhaltene Blutsediment an und für sich Lösungserscheinungen mittleren Grades zeigte und die Lösung erst nach Zusatz von Addiment komplett wurde. Die Flüssigkeit dagegen löste an und für sich frisches Blut nur in minimalem Maße, dagegen nach Hinzufügung von Immunkörper vollständig. Der Immunkörper war also vollständig oder fast vollständig gebunden, dagegen blieb ein erheblicher Teil des Addiments frei. Hieraus wurde gefolgert, daß bei höherer Temperatur der Immunkörper mit dem Addiment eine freilich nur lockere chemische, sehr leicht dissoziationsfähige Verbindung eingeht, während die Verwandtschaft des Immunkörpers zur Zelle, wie sich aus der leichten Verankerung auch in der Kälte ergab, eine sehr starke sein mußte. So gelangten Ehrlich und Morgenroth zu der Vorstellung, daß der Immunkörper zwei verschiedene haptophore Komplexe hat, einen mit großer Verwandtschaft zur haptophoren Zellgruppe, und einen zweiten mit geringerer chemischer Energie, der sich mit dem Addiment verbindet. Der Immunkörper stellt hiernach gewissermaßen eine Kette dar, welche das Addiment an das rote Blutkörperchen fesselt und wurde in diesem Sinne späterhin von Ehrlich als „Ambozeptor" bezeichnet. Dem bereits in der Seitenkettentheorie zum Ausdruck gelangten Bestreben folgend, die Wirkungen der Antikörper auf physiologisches Geschehen zurückzuführen, wurde dem thermolabilen und später als Komplement bezeichneten normalen Serumbestandteil (Addiment) der Charakter eines Verdauungsfermentes vindiziert und die komplexe Konstitution des Lysins damit begründet, daß für die Assimilation hochkomplizierter Körper besondere Seitenketten oder Rezeptoren, wie sie Ehrlich später nannte, vorhanden sein müssen, die außer der haptophoren Gruppe, „dem Fangarm", noch einen anderen Komplex enthalten, der durch Fixation geeigneter Fermente Verdauungswirkung auslösen kann. Diese kompliziert gebauten Fangarme des Protoplasmas gelangen dann infolge des immunisatorischen Eingriffs als Ambozeptoren in die Blutbahn, und die Erscheinung der Cytolyse ist daher „nichts als die Reproduktion eines Vorganges des normalen Zelllebens".

Die immunisatorische Erzeugung von Ambozeptoren erscheint also hiernach nicht verschieden von der Entstehung der Antitoxine. In beiden

Fällen handelt es sich darum, daß es möglich ist, die spezifischen Zellrezeptoren „auf dem Wege der Immunisierung in reicher Fülle und in der Form typischer Varietäten ins Blut herauszulocken und sie daselbst in solchem Maße anzuhäufen, daß ein eingehendes Studium dieser Substanzen, das im Zellverbande ganz unmöglich ist, nun tatsächlich vorgenommen werden kann" (Ehrlich)[8]). Alle diese als Antikörper in das Blut übertretenden Bestandteile des Zellverbandes werden nach Ehrlich entsprechend ihrer physiologischen Funktion zu den „Nutrizeptoren" gerechnet. Auf Grund ihrer Analyse im Antikörperstadium hat dann Ehrlich[9]) differenziert zwischen Unizeptoren und Ambozeptoren. Die ersteren besitzen nur eine haptophore Gruppe und wirken entweder, wie die Antitoxine und Antifermente, nur distributiv verankernd (Rezeptoren 1. Ordnung), oder sie verfügen noch über eine weitere ergophore Gruppe, mit welcher sie, wie die Agglutinine und Präzipitine, eine Wirkung auf das gefesselte Substrat ausüben können (Rezeptoren 2. Ordnung). Den Unizeptoren stehen dann als Rezeptoren 3. Ordnung die Ambozeptoren gegenüber.

Tatsächlich bedingen die Ambozeptoren auch allein das Wesen der Serumveränderung bei der immunisatorischen Erzeugung der cytolytischen Antikörper. Das Komplement ist bei der Immunisierung mit Zellen entsprechend den sich aus der Seitenkettentheorie ergebenden Folgerungen unbeteiligt, da es ja keine Beziehungen zu den Zellantigenen hat. Die daraufhin ausgeführten Untersuchungen von Dungerns[10]) haben bei der Blutimmunisierung — entsprechend früheren Erfahrungen Bordets mit bakterizidem Antiserum — die zu erwartende Übereinstimmung zwischen Theorie und Experiment ergeben.

Mit der Erkenntnis, daß, um es noch einmal kurz zu resumieren,

1. der Ambozeptor in spezifischer Weise von dem zugehörigen Antigen gebunden,
2. die Wirkung des Komplements ausschließlich durch Vermittlung des Ambozeptors ausgelöst und auf bestimmte Elemente übertragen wird,

war, abgesehen von jeder theoretischen Deutung, die experimentelle Basis für das Verständnis der Cytolysinwirkungen gewonnen. Auf die Theorie der Ambozeptorwirkung wird später noch zurückzukommen sein. An dieser Stelle darf aber gleich angefügt werden, daß, entsprechend den sich aus der Seitenkettentheorie ergebenden Konsequenzen, für die

[8]) Münch. med. Wochenschr., H. 5, **1909** [*109*].

[9]) Schlußbetrachtungen in Nothnagels Spez. Pathol. u. Ther., Bd. **VIII**, 3. Abt., **1901** [*75*].

[10]) Münch. med. Wochenschr., H. 20, **1900** [*339*].

Ambozeptorbildung dasselbe gilt, wie für die Antikörperreaktionen im allgemeinen. Aus der Seitenkettentheorie ergibt sich als wichtiges Postulat, daß das Antigen in zwei biologisch analysierbaren Funktionen, dem Antikörperbindungs- und dem Immunisierungsvermögen, sich übereinstimmend verhalten muß. Der Nachweis der Identität von antikörperbildenden und antikörperbindenden Gruppen in den roten Blutkörperchen und anderen Zellantigenen hat daher den Charakter eines experimentum crucis. Das Experiment hat in diesem Sinne die Richtigkeit der Deduktion erwiesen; von Dungern (l. c. [10]) konnte zeigen, daß mit Ambozeptor hinreichend beladene Blutkörperchen nicht mehr immunisierend wirken. Aber man wird andererseits, gleichfalls auf Grund der Seitenkettentheorie, nicht erwarten dürfen, daß der Versuch immer ohne weiteres in eklatanter Weise gelingt.

Bereits das von Ehrlich stets hervorgehobene Wechselspiel der Rezeptoraffinitäten kann von Bedeutung sein, und so können hinreichend avide Gewebsrezeptoren (auch das Moment der Massenwirkung ist dabei zu berücksichtigen) die injizierte Rezeptor-Ambozeptor-Verbindung sprengen. Ferner ist durch die an späterer Stelle noch zu erörternde Pluralität der Rezeptoren die Möglichkeit gegeben, daß den Blutkörperchenantigenen in dem benutzten Immunserum nicht alle Antikörpertypen zur Verfügung standen, um die ganze Schar haptophorer Gruppen abzusättigen, daß aber im Organismus des zu immunisierenden Individuums entsprechende Gegengruppen vorhanden sind. Endlich aber ist die Bindungskapazität der roten Blutkörperchen, wie Ehrlich und Morgenroth (l. c. 5/6) gezeigt haben, oft eine überaus große und steigt dazu, in Übereinstimmung mit gleichsinnigen Erfahrungen Eisenbergs und Volks an Agglutininen mit der dargebotenen Antikörpermenge, so daß eine Gewähr für vollständige Rezeptorabsättigung schwerlich besteht. Berücksichtigt man dazu noch den Umstand, daß bei der Lyse Rezeptoren wieder frei werden können, so ist es durchaus verständlich, daß das Ergebnis des von Dungernschen Experiments vielfach variiert.

So erklärt es sich, daß die Immunisierung mit antikörperbeladenen Elementen nicht immer vollständig negativ verläuft, wie das auch die Untersuchungen von Rehns[10a]), M. Neißer und Lubowski[11]) an Agglutininen und von Sachs[12]) an Hämolysinen aus dem Institute Ehrlichs gezeigt haben. Auf Grund der vorhergehenden Ausführungen braucht aber nicht mehr besonders darauf hingewiesen zu werden, daß hier nur die positiven Versuche (d. h. mit negativem oder stark vermindertem Immunisierungseffekt) eine Beweiskraft beanspruchen können.

Trotzdem ist die Lehre Ehrlichs gerade in der Frage des Parallelismus zwischen Antikörperbindungs- und Immunisierungsvermögen nicht

[10a]) C. r. Soc. Biol., **LII**, 1058, **1900** [*510*].
[11]) Centralbl. f. Bakt., **XXX**, 483, **1901** [*481*].
[12]) Centralbl. f. Bakt., **XXX**, 491, **1901** [*535*].

selten Angriffen ausgesetzt gewesen. Jedoch hat Ehrlich mit derselben Klarheit, mit der er die Identität der beiden biologisch nachweisbaren Gruppen formulierte, auch die Grenzen gezeichnet, welche für die Möglichkeit der experimentellen Demonstration bestehen. Denn einmal läßt die Seitenkettentheorie[13—19]) neben der spezifischen Bindung noch sekundäre Momente zu, welche für das außerordentliche Maß des Neubildungs- und Sekretionsvorgangs von Bedeutung oder ausschlaggebend sein können, mag man diese nun mit Ehrlich und Morgenroth (l. c. [3], [17], [19]) als „ictus immunisatorius", mit Pfeiffer als „spezifischen Reiz" oder mit Wassermann als „Bindungsreiz" bezeichnen. Es sind also, wenn man den Anschauungen Ehrlichs folgt, durchaus Antigenmodifikationen denkbar, welche noch den Antikörper zu binden, aber nicht mehr immunisierend zu wirken vermögen. Andererseits braucht aber, auch beim nachweislichen Immunisierungsvermögen der Rezeptorennachweis im Reagenzglas nicht ohne weiteres zu gelingen, ohne daß man dabei den Boden der Seitenkettentheorie verläßt. Aviditätsfaktor und quantitative Verhältnisse können beim Bindungsversuch störend interferieren, insbesondere, wenn man, wie bei gelösten Antigenen, nicht in der Lage ist, die letzteren vor der Prüfung auf vorhandene Antikörper aus dem Reaktionsgemisch zu entfernen. Erst vor wenigen Jahren sind von Ehrlich[20])[21]) alle diese Gesichtspunkte zur Widerlegung der von Bang u. Forssman erhobenen Einwendungen in Gemeinschaft mit Sachs nochmals zusammenfassend behandelt worden. Die gesamte Antikörperliteratur enthält eine Fülle von Beweismaterial für das Fundamentalprinzip der Identität von bindenden und immunisierenden Gruppen, und die Seitenkettentheorie ist gerade in diesem Punkte so sehr ein Ausdruck der Erscheinungen geworden, „daß man", wie Landsteiner jüngst sagte, „eine scheinbare Ausnahme von diesem Prinzip zunächst auf irgendeine andere Weise zu erklären versuchen sollte". Tatsächlich haben sich derartige Ausnahmen oft genug bei einer detaillierten experimentellen Analyse als scheinbare erwiesen und eine Aufklärung durch das komplizierte Getriebe differenzierbarer Aviditäten oder auch durch die Interferenz verschiedenartiger und nur im Endeffekt übereinstimmender Mechanismen gefunden. So konnte

[13]) Proc. Royal Soc., **LXVI**, 424, **1900** [*70*].
[14]) Deutsche med. Wochenschr., H. 50/52, **1901** [*71*].
[15]) Münch. med. Wochenschr. H. 52, S. 2123, **1901** [*74*].
[16]) Ebenda H. 33/34/52, **1903** [*81, 82*].
[17]) In Emmerich-Trillichs Anleitung zu hyg. Unters. III. Aufl., **1902** [*198*].
[18]) Artikel „Lysine" in Encyklopädie der Hygiene, **1903** [*199*].
[19]) Handbuch der patholog. Mikroorganismen (I. Aufl.), **IV**, 432, **1904** [*200*].
[20]) Münch. med. Wochenschr., H. 49/50, **1909** [*209*].
[21]) Münch. med. Wochenschr., H. 24, **1910** [*210*].

von Szily[22]) Befunde Cocas, nach denen osmierte Blutkörperchen wohl ambozeptorbindend, aber nicht immunisierend wirken sollten, zwar bestätigen, aber gleichzeitig nachweisen, daß die Ambozeptorbindung durch osmierte Blutkörperchen einen unspezifischen Vorgang darstellt, und daß bei quantitativer Untersuchung Ambozeptorbindungs- und Immunisierungsvermögen unter dem Einfluß der Osmierung gleichsinnig schwinden, dafür aber die unspezifische Adsorption durch osmiertes Blut allmählich in Erscheinung tritt. In ähnlicher Weise hat auch die Analyse des Ambozeptorbindungs- und Immunisierungsvermögens von Organen in der Arbeit von Orudschiew[23]) einen weitgehenden Parallelismus zwischen diesen beiden Funktionen ergeben.

Der Gedanke, welcher in der Seitenkettentheorie seinen Ausdruck fand, hat sich nach alledem umfassend genug erwiesen, um auch bei denjenigen Antikörpertypen, welche erst durch den Synergismus mehrerer Komponenten zu ihrer Wirkung gelangen, denselben befriedigenden Einblick in die Entstehung und Funktion der Immunstoffe zu gewähren, wie bei den einfachen Antitoxinen.

## II.

> „Es kann ja kaum einem Zweifel unterliegen, daß entsprechend dem Grundprinzip, welches von Virchow über den Zusammenhang von Zellphysiologie und -pathologie aufgestellt ist, auch die normalen Schutzstoffe denselben Entstehungsgesetzen folgen werden, welche für die künstlich erzeugten antitoxischen und bakteriziden Substanzen gelten."

Die in diesen Worten Ehrlichs (l. c. [14]) zum Ausdruck gelangende Überzeugung von den engen Beziehungen zwischen Physiologie und Pathologie des Zelllebens ist für die Gedankenarbeit, deren wesentlichen Inhalt man kurz als „Seitenkettentheorie" zusammenfassen mag, durchaus charakteristisch. Sie betrachtet einerseits die humoral wirkenden Immunstoffe als Produkte der Zelltätigkeit und erblickt andererseits in den durch den immunisatorischen Reiz hervorgerufenen Reaktionen nur eine quantitative Entartung physiologischer Stoffwechselvorgänge. Mußten daher der Auffassung Ehrlichs von vornherein die Gesetze für die Wirkung der Immunsera auch für die Funktion normaler Serumstoffe geltend erscheinen, so folgte dementsprechend in natürlichem Zusammenhange der Analyse der lytischen Immunserumwirkungen das Studium der Cytolyse durch normales Blutserum (Ehrlich u. Morgenroth, II. Mitteilg. über Hämolysine, l. c. [2]).

---

[22]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **III**, 451, **1909** [*596*].
[23]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **XVI**, 268, **1913** [*496*]

Zwar waren die normalen bakteriziden und globuliziden Serumstoffe weit früher bekannt, als ihre immunisatorischen Verwandten. Insbesondere hatte sie H. Buchner in ihrer prinzipiellen Bedeutung gewürdigt und ihre Kenntnis in bedeutungsvoller Arbeit vertieft. Er hatte die verschiedenartigen Funktionen des normalen Serums einem einheitlichen „Alexin" (Abwehrstoff) zugeschrieben, eine Auffassung, die dem damaligen Stande der Wissenschaft auch gerecht wurde. Durch die Arbeiten Ehrlichs und Morgenroths hat jedoch das Alexin Buchners als einheitlicher Abwehrstoff des Blutes seine Existenzberechtigung verloren. Es ergab sich vielmehr, daß auch die normalen Lysine des Blutserums den gleichen Gesetzen folgen, wie die Immunhämolysine und durch das Zusammenwirken von Ambozeptor und Komplement ihre Funktion entfalten. Heute bildet diese Erkenntnis ein fast selbstverständliches Glied unseres Wissens, so daß es nur als ein historischer Exkurs erscheint, wenn man an die langwierigen experimentellen Demonstrationen erinnert, deren es in den ersten Jahren dieses Jahrhunderts bedurfte, bevor die Lehre Ehrlichs allgemeine Zustimmung fand. Allerdings war der Nachweis der komplexen Konstitution bei den normalen Hämolysinen vielfach nicht so leicht zu erbringen wie beim Immunserum. Die Bekämpfung, welche die Verallgemeinerung des Grundsatzes, insbesondere von Seiten Buchners und Grubers erfahren hat, bildete jedoch die Veranlassung zu einer erheblichen Erweiterung der methodischen Hilfsmittel, und es ist wegen der Eigenart der Überlegung und der Anordnung der Experimente nicht ohne Interesse, auf den Ausbau der experimentellen Methodik zurückzublicken, deren Grenzen übrigens von Ehrlich und Morgenroth von vornherein bezeichnet wurden, und deren Verfolg zur Feststellung eines großen Tatsachenmaterials führte.

Der Nachweis der komplexen Konstitution ist im Normalserum schon dadurch viel schwieriger als im Immunserum, daß eine mehr oder weniger enge Äquivalenz zwischen Ambozeptor- und Komplementgehalt besteht, während im Immunserum die Ambozeptorkomponente stets erheblich prävaliert. So sind der gewöhnlichen Aktivierungsmethode, d. h. der Aktivierung geringer Serummengen oder des inaktivierten Serums durch das artgleiche aktive Normalserum, Beschränkungen gesetzt, da es eben nicht oder nur selten gelingt, inaktiviertes Serum durch nicht mehr hämolytisch wirkende Serumdosen zu kompletieren. Man muß daher, wie Ehrlich und Morgenroth (l. c. [2]) erkannten, nach geeigneten Komplementquellen suchen, und ob man diese findet, das hängt in schwierigen Fällen vom Zufall ab.

Als nicht seltene Fehlerquellen wurde bei diesen Aktivierungsstudien das schematische Inaktivieren der Sera durch ½stündiges Erhitzen auf

55° erkannt. Es ergab sich nämlich in Versuchen von Sachs[24]), Morgenroth und Sachs[25]) die später vielfältig bestätigte Tatsache, daß es auch thermolabile, zumal normale, Ambozeptoren gibt, so daß es bei unbekannter Kombination erforderlich ist, die niedrigste Inaktivierungstemperatur zu bestimmen.

Die systematischen Untersuchungen über die komplexe Konstitution der Normalsera zeigten auch in anderer Hinsicht die Gefahren, welche eine schematisierende Versuchsanordnung gerade in den Problemen der Immunitätsforschung bedeutet. So sei in diesem Zusammenhang erinnert an das von Ehrlich und Sachs[26]) entdeckte Phänomen der Komplementoidverstopfung, welche den Ambozeptornachweis vereiteln kann, wenn das inaktivierte Serum vor dem Komplementzusatz mit dem Blut digeriert wird. Andererseits wurde durch Morgenroth[27]) erkannt, daß in gewissen Fällen gerade durch das gleichzeitige Mischen von Blut, inaktiviertem Serum und Komplement die Hämolyse trotz der Anwesenheit von Ambozeptor ausbleiben kann, weil antikomplementäre Funktionen interferieren, welche durch Zentrifugieren vor dem Komplementzusatz entfernt werden können (Nachweis larvierter Ambozeptoren).

Gegenüber insbesondere von Gruber erhobenen Einwänden mußte zur sicheren Fundierung der komplexen Konstitution der normalen Hämolysine auch nach Verfahren gesucht werden, durch artgleiches Serum zu einer Aktivierung zu gelangen. Es ergab sich in dieser Hinsicht in einem Beitrag von Sachs[28]) einerseits, daß manche Serumarten (z. B. Hundeserum) bereits normalerweise einen genügenden Komplementüberschuß haben, um eine Aktivierung des erhitzten Serums zu ermöglichen, daß andererseits oftmals das Serum von Föten oder juvenilen Individuen vorwiegend durch Ambozeptormangel charakterisiert ist, so daß es als reines Komplement zur Aktivierung des gleichartigen inaktivierten Serums dienen kann. Maßgebend waren dabei die in den Arbeiten von G. Müller[29]), Sachs[30]) und Marshall[31]) gewonnenen Erfahrungen über Unterschiede im Verhalten des fötalen und mütterlichen Serums.

Jedoch waren hiermit die methodologischen Möglichkeiten nicht erschöpft, vielmehr konnten die in den Bindungsversuchen von Ehrlich

---

[24]) Berl. klin. Wochenschr., H. 9/10, **1902** [*538*].
[25]) Berl. klin. Wochenschr., H. 27, **1902** [*457*].
[26]) Berl. klin. Wochenschr., H. 21, **1902** [*206*].
[27]) Münch. med. Wochenschr., H. 25, **1902** [*448*].
[28]) Münch. med. Wochenschr., H. 7, **1904** [*542*].
[29]) I.-D. Bern **1901** [*459*].
[30]) Centralbl. f. Bakt., **XXXIV**, 686, **1903** [*541*].
[31]) Journ. f. exp. Med., **VI**, 347, **1905** [*427*].

und Morgenroth (l. c. [1]) analysierten Verhältnisse auch erfolgreich zur direkten Trennung von Ambozeptor und Komplement aus normalen hämolytischen Serumarten herangezogen werden. Durch den bereits erwähnten Kälte-Trennungsversuch war es möglich geworden, den Ambozeptor isoliert an die Zelle zu verankern. Freilich hindern die allgemeine Durchführbarkeit dieses Prinzips die von Ehrlich (l. c. [2]) erkannten und später oft wieder aufgefundenen Aviditätsdifferenzen, welche zwischen normalen und immunisatorisch erzeugten Antikörpern bestehen. Die Voraussetzung des Gelingens der Kältetrennung ist aber eine hinreichende Avidität des Ambozeptors zur Zelle, einmal in absolutem Sinne, dann aber auch in der Relation zur Avidität zum Komplement. Daß auch bei einer für die Kältereaktion unzureichenden Avidität des Ambozeptors zuweilen die Demonstration der direkten Trennung noch gelingt, konnte wiederum durch die von Ehrlich und Sachs (l. c. [26]) erkannte Funktion eines hypertonischen Salzgehaltes gezeigt werden, der nur auf die Komplementwirkung, aber nicht auf die Ambozeptorbindung von Einfluß ist und es daher in gewissen Fällen gestattet, die isolierte Verankerung des Ambozeptors auch unter den günstigen Bedingungen der höheren Temperatur zustandekommen zu lassen (Versuche von Sachs, l. c. [28]). Durch die vielfältige Methodik ist es in allen daraufhin untersuchten Fällen und insbesondere auch in solchen, welche von Buchner und Gruber als angebliche Beweise für die Einheitlichkeit des Alexins angeführt wurden, gelungen, den Nachweis der komplexen Konstitution der normalen Hämolysine im Blutserum, wie auch in Trans- und Exsudaten zu erbringen. Neben den Arbeiten aus dem Laboratorium Ehrlichs (Ehrlich u. Morgenroth, l. c. [2]), Sachs (l. c. [24], [28]), Marshall (l. c. [31])) sind es Untersuchungen zahlreicher Autoren (P. Müller, London, E. Neißer u. Döring, Meltzer Moreschi, Flexner u. Noguchi, Strauß u. Wolff u. a.), welche die von Ehrlich und Morgenroth entdeckte, normale und Immunsera in gleicher Weise umfassende, Gesetzmäßigkeit immer aufs neue bestätigten. Sie beherrscht natürlich auch andere lytische Serumwirkungen, insbesondere die bakteriziden, wie sich das schon aus älteren Erfahrungen R. Pfeiffers, Moxters und im allgemeinen besonders aus den Untersuchungen von M. Neißer und Wechsberg[32–34]) ergab. In der Arbeit von Sachs (l. c. [24]) wurde auch der Nachweis der komplexen Konstitution des Spermotoxins geführt.

Wenn nun auch die komplexe Konstitution im allgemeinen die cyto-

[32]) Deutsche med. Wochenschr., H. 49, **1900** [*466*].
[33]) Münch. med. Wochenschr., H. 18, **1901** [*490*].
[34]) Zeitschr. f. Hyg., **XXXIX**, 171, **1902** [*603*]

lytischen Serumwirkungen im Sinne Ehrlichs charakterisiert, so ist heute die Frage, in welcher Weise die Trennung beim Bindungsversuch aus aktivem Serum erfolgt, nicht mehr ohne weiteres einheitlich zu beantworten. Es hat sich nämlich späterhin gezeigt, daß auch das Komplement, ebenso wie das Gesamtlysin, komplexer Natur ist.

Studien über Komplemente nehmen in den Arbeiten Ehrlichs und seiner Schule einen beträchtlichen Raum ein. Ehrlich und Morgenroth (l. c. [1]) vindizierten den Komplementen eine toxinartige Konstitution und unterschieden an ihrem Molekül, ebenso wie an demjenigen der Toxine, eine haptophore und eine ergophore (zymotoxische) Gruppe. Auf Grund dieser Anschauung ergibt sich die Möglichkeit einer Existenz von Komplementmodifikationen (Komplementoiden), welche ebenso wie die Toxoide nur noch die stabilere haptophore Gruppe besitzen. Die Voraussetzung des Nachweises derartiger Komplementoide ist dabei, wie das Ehrlich und Morgenroth (l. c. [5]) betonten, die verschiedene Resistenz der beiden Gruppen gegenüber physikalischen oder chemischen Einflüssen. Das Immunisierungsverfahren, d. h. die Erzeugung von antikomplementär wirkenden Immunstoffen durch Immunisierung mit inaktiviertem Blutserum, kann heute nicht mehr im Sinne der Komplementoidnatur der dabei wirksamen Antigene gedeutet werden, wie es ursprünglich Ehrlich und Morgenroth (l. c. [4], [5]) glaubten. Denn wir wissen durch die Arbeiten Moreschis, daß ein Beweis für die Immunantikomplemente im engeren Sinne nicht existiert. Dagegen gelang es Ehrlich und Sachs (l. c. [26]) in Reagenzglasversuchen durch „Verstopfung" ambozeptorbeladener Blutkörperchen mit inaktiviertem Serum die Interferrenz von Komplementoidmodifikationen sehr wahrscheinlich zu machen.

Es zeigte sich nämlich, daß Meerschweinchenblutkörperchen, welche zuvor mit inaktiviertem Hundeserum beladen (sensibilisiert) waren, durch komplementhaltiges Meerschweinchenserum nicht gelöst werden, obwohl beim gleichzeitigen Mischen von Meerschweinchenblut, inaktiviertem Hundeserum und Meerschweinchenserum Hämolyse eintritt. Da zudem nach vorheriger Bindung der im Hundeserum vorhandenen Bestandteile an Meerschweinchenblut unter solchen Bedingungen, die, wie Kälte, Hypertonie des Mediums usw., eine Verankerung des Komplements resp. des Komplementoids an das ambozeptorbeladene Substrat ausschlossen, eine Resistenz gegenüber dem Meerschweinchenkomplement nicht erzielt wurde, so war die Schlußfolgerung, daß es sich um einen Fall der von Ehrlich theoretisch postulierten Komplementoidwirkung handelte, durchaus berechtigt, und demgegenüber konnten auch Einwände, welche von Gay erhoben wurden, nicht stichhaltig erscheinen (vgl. Sachs[35]).

[35]) Centralbl. f. Bakt., **XL**, 125, **1905** [*548*].

Eine Reihe anderer Befunde sprechen, wenn auch nicht mit solcher Prägnanz in demselben Sinne, daß es nämlich Hemmungsstoffe gibt, die von den Komplementen derivieren und durch Beeinflussung ambozeptorbeladener Blutkörperchen den Komplementen den Zugang sperren. Jedoch erscheint die Komplementoidfrage heute in neuartiger Beleuchtung durch den Nachweis der komplexen Konstitution der Komplemente.

Diese interessante Entdeckung, über welche Ferrata aus dem Laboratorium Morgenroths berichtet hatte, wurde sehr bald durch die aus dem Institut Ehrlichs hervorgegangenen Arbeiten von Brand[36]) und Hecker[37]) bestätigt. Das Komplement — auch das bakterizide, wie Boehncke[38]) in Übereinstimmung mit Braun gezeigt hat — ist hiernach in zwei Komponenten spaltbar, von denen die eine an der Globulin- (resp. Euglobulin-)fraktion, die andere an der Albuminfraktion des Serums haftet.

Zur Methodik der Herstellung der beiden Komplementfraktionen, die im übrigen durch die von Ferrata geübte Dialyse, sowie durch das Kohlensäurefällungsverfahren Liefmanns erreicht wird, brachten Untersuchungen von Sachs und Altmann[39]) einen Beitrag. Danach kann man die Spaltung des Komplementes auch durch Fällung des Serums durch verdünnte Salzsäure ($^1/_{250}$—$^1/_{300}$ n. in Aq. dest.) erreichen. Der Vorgang hat durch die quantitative Dosierbarkeit aller in Betracht kommenden Reagenzien gewisse Vorzüge und ist in seinem Wesen nicht ohne Interesse.

In der Arbeit von Sachs und Teruuchi[40]) hatte sich nämlich ergeben, daß das Komplement durch Verdünnen im salzfreien Medium inaktiviert wird. Es war daher zunächst zu erwarten, daß eine Gewinnung wirksamer Komplementfraktionen durch die Einwirkung von Salzsäure auf das mit Aq. dest. verdünnte Serum gar nicht gelingt. Erst nachdem sich in Versuchen von Sachs und Altmann gezeigt hatte, daß die Inaktivierung im salzfreien Medium nur bei neutraler Reaktion stattfindet und sowohl durch Alkali, als auch durch Säure verhindert wird, waren die experimentellen Grundlagen für die Möglichkeit des seither vielfach benutzten Salzsäurefällungsverfahrens gegeben.

Für die weitere Analyse der beiden Fraktionen und ihres Zusammenwirkens erwies sich wiederum das von Ehrlich geschaffene methodische Prinzip des Bindungsversuches von großer Bedeutung. Die Arbeiten von Brand (l. c. [36]) und Hecker (l. c. [37]) zeigten, daß die Globulinfraktion von ambozeptorbeladenemBlut gebunden wird, resp. daß sie das letztere so verändert, daß es bereits durch den Albuminteil gelöst wird, während

[36]) Berl. klin. Wochenschr., H. 34, **1907** [*321*].
[37]) Arb. aus d. Inst. f. exp. Ther., H. 3, 39, **1907** [*367*].
[38]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **XIII**, 240, **1912** [*305*].
[39]) Centralbl. f. Bakt., I. Abt. Ref., **XLII**, Beiheft, S. 174, **1908** [*554*].
[40]) Berl. klin. Wochenschr., H. 16/17—19, **1907** [*570*].

der Albuminfraktion keinerlei Beziehungen zu den ambozeptorbeladenen Blutkörperchen zukommen. Da sich mithin für Globulin- und Albuminteil ähnliche Beziehungen ergeben hatten, wie sie für Ambozeptor und Gesamtkomplement gelten, wurde das wirksame Prinzip der Globulinfraktion als „Mittelstück", dasjenige der Albuminfraktion als „Endstück" bezeichnet. Von Interesse ist die weitere Feststellung von Brand und Hecker, daß die Einwirkung des isolierten Mittelstücks auf die ambozeptorbeladenen Blutzellen auch bei 0° erfolgt. Der Grad der Mittelstückbindung hängt zwar, wie spätere Untersuchungen, insbesondere von Liefmann und Cohn, Braun gezeigt haben, von der Ambozeptormenge ab. Wie man sich aber auch den Wirkungsmechanismus vorstellen mag, so wird doch im Mittelpunkt der Betrachtung die von Brand und Hecker zuerst ermittelte Differenz zwischen dem Verhalten der beiden Komponenten gegenüber dem ambozeptorbeladenen Blut stehen müssen, zumal sie in jedem Falle für eine vermittelnde Rolle des Mittelstücks spricht.

Eine ähnliche Abhängigkeit der Verhältnisse von der Ambozeptormenge, wie sie bei der Mittelstückbindung durch ambozeptorbeladenes Blut gilt, besteht nun auch nach den Versuchen von Sachs und Bolkowska[41]) bei dem Ehrlich-Morgenrothschen Kältetrennungsverfahren. Wird nämlich das Gesamtkomplement in der Kälte mit ambozeptorbeladenem Blut digeriert, so findet bei geringem Ambozeptorgehalt die Zerlegung zwischen Ambozeptor und Komplement, bei hinreichendem Ambozeptorüberschuß jedoch innerhalb des Komplements statt. Man kann derart die Blutkörperchen so vorbehandeln, daß sie ein Reagens auf Endstück darstellen („persensibilisiertes" Blut nach Michaelis und Skwirsky). Für die Frage der komplexen Konstitution der Hämolysine ist das natürlich gleichgültig. Wesentlich ist im Sinne Ehrlichs die prinzipielle Demonstration der Tatsache, daß aus dem lytischen Serum 2 an und für sich inaktive, zusammen aber wirksame Fraktionen erhalten werden.

Die Hemmung der Hämolyse durch ein hypertonisches Medium wird durch ähnliche Gesetze beherrscht. Während Ehrlich und Sachs (l. c. [26]) zunächst zeigten, daß die antireaktive Wirkung eines erhöhten Salzgehalts sich nicht auf die Ambozeptorbindung, sondern auf die Komplementwirkung erstreckt, ergab sich später aus den Versuchen von Guggenheimer[42]) in Übereinstimmung mit v. Dungern und Hirschfeld, daß auch hierbei der Ausfall des Versuchs von der vorhandenen Ambozeptormenge abhängig ist.

[41]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **VII**, 778, **1910** [*565*].
[42]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **XI**, 393, **1911** [*362*].

In Rohrzuckerlösung (salzfreies Medium) liegen jedoch nach einer von Guggenheimer[43]) ausgeführten Analyse schwierigere Bedingungen vor, da im salzfreien Medium die Blutkörperchen bereits ohne Interferenz von Ambozeptoren das Mittelstück aus dem Serum aufnehmen.*) Verwendet man ambozeptorbeladene Blutkörperchen, so kann man sehr leicht durch Behandeln mit aktivem Meerschweinchenserum und Rohrzuckerlösung zu „persensibilisiertem" Blut gelangen, also zu Blutkörperchen, welche nicht nur ambozeptor-, sondern auch mittelstückbeladen sind.

Zum gleichen Zwecke eignet sich auch gut die Verwendung der in Kochsalzlösung gelagerten Globulinfraktion. Wie Brand (l. c. [36]) gezeigt hat, erfährt die letztere nämlich eine Alteration, derart, daß sie, mit der Albuminfraktion gemischt, nicht mehr hämolytisch wirkt, dagegen nach vorheriger Bindung an das ambozeptorbeladene Blut die Empfindlichkeit für das Endstück zur Folge hat (sog. Kochsalz- oder Brandsche Modifikation). Dieses interessante Phänomen, dessen Wesen von Hecker (l. c. [37]) weiter analysiert wurde, hat zu vielfachen Untersuchungen Anregung gegeben (insbesondere von Friedemann, Thomsen und Leschly und anderen).

Weitere Arbeiten aus dem Institut Ehrlichs betreffen das Verhalten der Komplemente resp. ihrer Fraktionen unter verschiedenen Bedingungen gegenüber verschiedenartigen Einflüssen. Sie haben die Kenntnis der Komplemente nach vielen Richtungen erweitert und zahlreiche Erscheinungen zum ersten Male demonstriert, können aber hier nur kurz in ihren Ergebnissen gestreift werden.

Wertvolle Angaben über das Vorkommen von Komplementen nicht nur im Serum, sondern auch in Transsudaten und Exsudaten enthalten außer den schon erwähnten Arbeiten die Beiträge von Marshall und Morgenroth[44]) [45]).

Wie Ritz[46]) gezeigt hat, sind im Mäuseserum hämolytische Komplementwirkungen nicht nachweisbar, trotzdem sich die Maus zur Erzeugung von hämolytischen Ambozeptoren und anderen Antikörpern eignet.

Über individuelle Schwankungen des Komplementgehaltes und zeitliche Unterschiede bei einem und demselben Individuum berichteten Morgenroth und Sachs, l. c. [25] (vgl. auch Marshall, l. c. [31]). Dabei ergab sich vielfach auch eine Unabhängigkeit der Variabilität verschiedener Komplementfunktionen. Gesetzmäßige Schwankungen des Komplementgehaltes bei der Immunisierung mit fremdartigen Blutkörperchen konnte Sachs[47]) feststellen. In der erwähnten Arbeit von Sachs finden sich auch Angaben über den Ver-

*) In der Arbeit von Guggenheimer (l. c. [43]), sowie bei Sachs und Teruuchi (l. c. 40) finden sich auch methodologische Angaben über Blutaufschwemmungen und Hämolyse in Rohrzuckerlösung.

[43]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **VIII**, 295, **1910** [*360*].

[44]) Centralbl. f. Bakt., **XXXI**, 570, **1902** [*428*].

[45]) Zeitschr. f. klin. Med., **XLVII**, 279, **1902** [*429*].

[46]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **IX**, 321, **1911** [*517*].

[47]) Arch. f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abt., S. 494, **1903** [*540*].

lauf der Ambozeptorkurve bei der Immunisierung und über den Einfluß der Blutmenge. Eine Abnahme des Komplementgehaltes bei experimentellen Schädigungen, so bei Phosphorvergiftung, bei Immunisierungsformen („Autoantikomplemente"), haben zuerst Ehrlich und Morgenroth (l. c. [4], [5]) beschrieben. Auch über das gelegentliche Vorkommen von thermostabilen Komplementen haben Ehrlich und Morgenroth (l. c. [2]) berichtet.

Der im allgemeinen bestehenden erheblichen Labilität der Komplemente wurde von Ehrlich durch die Methode der Konservierung im gefrorenen Zustande entsprochen (vgl. Morgenroth, l. c. [7]), die wohl auch heute noch die beste Maßnahme für das Aufbewahren aktiver Sera darstellt. Physikalisch-chemische Unterschiede zwischen aktivem und inaktivem Serum behandeln Arbeiten von Sachs[48]), sowie Sachs und Altmann[49]).

Zahlreiche Angaben über die Faktoren, welche zur Komplementinaktivierung führen können, rühren von Ehrlich und seinen Mitarbeitern her. Es seien genannt: die Inaktivierung der Komplemente durch Säurewirkung (Ehrlich und Morgenroth, l. c. [2]), durch Alkali (Ehrlich und Sachs[50])), durch Äther (Kyes und Sachs[51])), durch Fermentwirkungen (Ehrlich und Sachs[50])). Auch die späterhin vielfach untersuchten Erscheinungen über die Absorption der Komplemente sind zuerst durch die Arbeiten Ehrlichs bekannt geworden. So beschrieben schon Ehrlich und Morgenroth (l. c. [4]) das Zurückbleiben von Komplementen bei der Kerzenfiltration, v. Dungern die antikomplementäre Funktion von Gewebszellen, Bakterienaufschwemmungen, Hefe, und Ehrlich und Sachs (l. c. [50]) benutzten Kohle, Hautpulver, Lykopodium, Kieselgur unter der Voraussetzung, „daß die Komplemente, wie so viele andere Körper der Chemie, durch Flächenanziehung an körnigen Substanzen verschiedener Art anhaften würden."

Die antikomplementäre Wirkung von Seifen und anderen Lipoiden behandeln die Arbeiten von Sachs und Altmann[52]), Sachs und Rondoni[53], [54]), Guggenheimer[55]).

Besonders erwähnenswert ist die Analyse des eigenartigen Mechanismus der Komplementinaktivierung im salzarmen Medium, welche in den Arbeiten von Sachs und Teruuchi (l. c. [40]), sowie Sachs und Altmann (l. c. [39]) eine Abhängigkeit des Vorgangs von der Beschaffenheit des Serums (resp. Reaktion des Mediums), der Temperatur und der Serumkonzentration ergab. Eine Abhängigkeit von Zeit, Temperatur, Verdünnung und Volumen wurde ferner in Versuchen von Ritz[56]) bei der von Jacoby und Schütze beschriebenen Komplementinaktivierung durch Schütteln festgestellt.

---

[48]) Semaine médicale Nr. 24, **1908** [*553*].
[49]) Berl. klin. Wochenschr., H. 10, S. 522, **1908** [*560*].
[50]) Berl. klin. Wochenschr., H. 14/15, **1902** [*205*].
[51]) Berl. klin. Wochenschr., H. 2/4, **1903** [*404*].
[52]) Berl. klin. Wochenschr., H. 10, **1908** [*561*].
[53]) Berl. klin. Wochenschr., H. 44, **1908** [*568*].
[54]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **I**, 132, **1908/9** [*569*].
[55]) Münch. med. Wochenschr., H. 26, **1911** [*361*].
[56]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **XV**, 145, **1912** [*520*].

Der Einfluß der Serumkonzentration spielt eine bedeutsame Rolle bei der Komplementinaktivierung durch Kobragift, mit der sich die Arbeiten von Sachs[57]), Omorokow[58]), Sachs und Omorokow[59]), Ritz[60]), Husler[61]), Jonas[62]) eingehend beschäftigen. Das Studium dieser Inaktivierungsform bildete den Anlaß, bei der Komplementfunktion neben den als Mittelstück und Endstück bezeichneten Bestandteilen noch eine dritte Komponente zu supponieren. Wesentlich für diese Auffassung war die Tatsache, daß das durch Kobragift inaktivierte Serum nicht nur durch das Mittelstück, wie das Braun gezeigt hatte, sondern auch durch das Endstück quantitativ restituiert werden kann. Dabei ist aber die restituierende Wirkung nicht dem Mittelstück und Endstück als solchem zuzuschreiben, sondern einem thermostabilen, im inaktivierten Serum vorhandenen Faktor, während Mittelstück und Endstück (Brand, l. c. [36], Guggenheimer, l. c. [42], Ritz, l. c. [60], Husler, l. c. [61]), ebenso wie die gesamte Komplementfunktion, mehr oder weniger thermolabil sind. Man hat also nach diesen Erfahrungen mit der Interferenz von wenigstens drei Faktoren bei der Komplementwirkung zu rechnen, ein Fortschritt der Erkenntnis, der freilich für das Verständnis des Zusammenwirkens der Komponenten neue Schwierigkeiten bedeutet.

Analoge Ergebnisse, wie sie bei der Kobragift-Inaktivierung bestehen, wurden in einer Mitteilung von Ritz und Sachs[63]) auch für die Komplementinaktivierung durch Bakterien beschrieben. Es scheint hiernach die primäre Elimination der 3. Komponente für verschiedene Inaktivierungsformen Geltungsbereich zu besitzen.

Auf eine Reihe von Angaben über die Beeinflußbarkeit der einzelnen Komponenten des Komplements, ihr Vorkommen und ihre gegenseitigen Beziehungen, welche sich in Arbeiten von Sachs und Bolkowska, (l. c. [41]) Guggenheimer (l. c. [42]), Ritz (l. c. [60]), Husler (l. c. [61]), Jonas (l. c. [62]) finden, sei hier nur hingewiesen.

Auch die Natur der Komplemente wurde in einer Reihe von Arbeiten behandelt, deren Ergebnisse zwar in Bezug auf die Frage nach der chemischen Beschaffenheit des Komplements mehr negativen Charakter haben, aber darum an und für sich nicht minder von Interesse sind. So wurde durch die Untersuchungen Korschuns und Morgenroths[64]), welche durch die von Metschnikoff und Tarassévitch ent-

[57]) Münch. med. Wochenschr., H. 9, **1908** [*550*].
[58]) Zeitchr. f. Immunitätsf., **X**, 285, **1911** [*493*].
[59]) Ebenda, **XI**, 710, **1911** [*567*].
[60]) Ebenda, **XIII**, 62, **1912** [*519*].
[61]) Ebenda, **XV**, 157, **1912** [*378*].
[62]) Ebenda, **XVII**, 339, **1913** [*379*].
[63]) Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Ref., **L**, Beiheft, S. 43, **1911** [*523*].
[64]) Berl. klin. Wochenschr., H. 37, **1902** [*391*].

deckte hämolytische Wirkung der Organextrakte veranlaßt waren, der grundlegende Nachweis geführt, daß die Hämolysine der Organextrakte koktostabil und alkohollöslich sind, daß sie von roten Blutkörperchen auch bei 0° gebunden werden, ohne dabei hämolytisch zu wirken, daß sie durch normale Sera, auch nach dem Erhitzen der letzteren auf 100°, stark beeinflußt werden, und daß sie endlich autolytisch wirken. Durch diese Charakterisierung war die später allgemein bestätigte Differenzierung von den Komplementen des Blutserums erwiesen, und man darf wohl diese Arbeit von Korschun und Morgenroth im Verein mit den Arbeiten über die hämolytische Wirkung der Schlangengifte (vgl. hierzu das Kapitel C, 9) als den Ausgangspunkt der großen Literatur über hämolytische Lipoidwirkungen bezeichnen.

Die Beziehungen der Lipoide zu den Komplementen gewannen später wiederum erhöhtes Interesse, als Noguchi und insbesondere von Liebermann versuchten, den Seifen oder seifenähnlichen Verbindungen eine ausschlaggebende Rolle bei der Komplementwirkung zuzuschreiben. Hierdurch wurden Untersuchungen von Hecker (l. c. [37]) und Rondoni[65]) im Ehrlichschen Institut veranlaßt, aus denen sich eine Reihe von Tatsachen über die hämolytische Wirkung der Lipoide und ihre Beeinflußbarkeit ergab, die aber ebensowenig wie die Arbeiten von von Dungern und Coca, M. Friedemann, F. Sachs, Liefmann u. a. Anhaltspunkte zugunsten der Seifennatur der Komplemente erbrachten.

In die Übersicht über Komplementstudien aus der Arbeitsstätte Ehrlichs sei noch ein kurzer Hinweis über diejenigen Untersuchungen eingefügt, welche der Differenzierung mehrerer Komplementfunktionen in einem und demselben Serum galten. Es handelt sich hierbei um die Wirkung physikalischer und chemischer Einflüsse (Ehrlich und Morgenroth (l. c. [2], [4]), Ehrlich und Sachs (l. c. [50])), um die Differenzierung durch ein Partialantikomplement (Marshall und Morgenroth, l. c. [44]), um den Nachweis der Unabhängigkeit individueller Schwankungen des Komplementgehalts in bezug auf einzelne Komplementfunktionen (Morgenroth und Sachs, l. c. [25], Marshall, l. c. [31]), um Untersuchungen über Veränderungen spezifischer Komplementfunktionen bei intravasaler Wirkung ambozeptorbeladener Blutkörperchen (Ehrlich und Sachs, l. c. [50], Sachs, l. c. [47]) und endlich auch um isolierte Bindung gewisser Partialkomplemente durch ambozeptorbeladenes Blut. Verschiedenheiten von hämolytischen und bakteriolytischen Komplementen demonstrierten Arbeiten von Wechsberg[66]) und M. Neißer (l. c. [32–34]). Wenn auch die Deutung durch das erst später hinzugekommene Moment der komplexen Konstitution der Komplemente Komplikationen erfahren hat, so tragen

[65]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **IX**, 191, **1911** [*531*].
[66]) Wien. klin. Rundschau, H. 41, **1901** [*602*].

die mitgeteilten Versuche doch den Charakter der von Ehrlich stets geforderten quantitativen Bestimmung und veranlaßten Ehrlich eine Mehrzahl von Komplementen zu supponieren.

Die Besprechung der Arbeiten über die Konstitution der cytolytischen Serumstoffe soll nicht beendet werden, ohne darauf hinzuweisen, daß von Ehrlich und seinen Mitarbeitern auch anderen Formen des Synergismus mehrerer Komponenten Aufmerksamkeit geschenkt wurde.

Die Agglutinine des Serums hat Ehrlich von den hämolytischen Antikörpern unterschieden. In der 1. Mitteilung über Hämolysine schlossen Ehrlich und Morgenroth (l. c. [1]), daß die Agglutination keineswegs als eine Vorbedingung des hämolytischen Vorgangs aufgefaßt werden kann. Einen Beitrag zur Differenzierung von Agglutininen und Ambozeptoren durch räumliche Trennung brachte die Arbeit von Sachs (l. c. [28]), die Unabhängigkeit des Komplementschwundes von dem Vorgang der Agglutination behandelt eine Arbeit von Browning[67]). Reichhaltiges Tatsachenmaterial enthalten ferner zahlreiche Arbeiten über Bakterienagglutination, welche im Kapitel „Bakteriologie" (vgl. B, 6) erörtert sind.

Die Anschauung Ehrlichs, daß die Agglutinine freigewordene Rezeptoren II. Ordnung darstellen, d. h. einheitliche Antikörper mit einer haptophoren und einer ergophoren Gruppe, widerspricht natürlich nicht der Tatsache, daß es auch Agglutinationsmechanismen gibt, welche durch das Zusammenwirken mehrerer Komponenten entstehen. Hierher gehört die Agglutination durch „Kettenbindung" nach Moreschi[68]), wie auch die von von Szily[69]), analysierte agglutinationsvermittelnde Funktion des Kreuzspinnengifts und endlich das von Bordet und Gay erkannte Phänomen der Konglutination, bei dem thermolabile Serumfunktionen interferieren. Ein kleiner Beitrag von Sachs[70]) behandelt die nach den Untersuchungen von Gengou der Konglutination entsprechende Ausflockung von Mastixemulsionen.

Erwähnt sei in diesem Zusammenhang auch die Arbeit von Sacharoff und Sachs[71]) über die hämolytische Wirkung der photodynamischen Stoffe, bei der die Hämolyse durch das Zusammenwirken von fluoreszierenden Stoffen und dem Einfluß des Lichtse zustande kommt und in Bestätigung der Bedeutung des Sauerstoffs für den Mechanismus photodynamischer Wirkungen durch Zusatz eines Sauerstoffängers (Natriumsulfit) unterdrückt werden konnte. In dieser Arbeit wurde auch zum ersten Male über den tödlichen Einfluß der photodynamischen Wirkung auf weiße Mäuse, denen Erythrosin injiziert worden war, berichtet.

Verwiesen darf vielleicht in diesem Zusammenhange werden auf die

[67]) Wien. klin. Wochenschr., H. 15, **1906** [*323*].
[68]) Centralbl. f. Bakt., **XLVI**, 456, **1908** [*441*].
[69]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **V**, 280, **1910** [*597*].
[70]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **XIII**, 371, **1912** [*558*].
[71]) Münch. med. Wochenschr., H. 7, **1905** [*533*].

Beobachtungen Kudickes[71a]) über Hämolyse in vivo bei Mäusen (Hämoglobinurie und Tod) nach der Injektion des Serums von Ziegen, die mit trypanosomenhaltigem Mäuseblut vorbehandelt waren. Ob es sich dabei um das Zusammenwirken spezifischer Hämolysine mit Stoffen, welche der gleichzeitigen Einverleibung von Trypanosomen ihre Entstehung verdanken, oder um hämolytische Agentien besonderer Art handelt, muß vorläufig dahingestellt bleiben.

Die hier auch zu nennenden Arbeiten über Schlangengifte sind im Kapitel „Tierische Toxine" (C, 9) behandelt.

Am Schluß dieses Abschnittes seien noch einige Worte über den Zusammenhang von normalen und immunisatorisch erzeugten Ambozeptoren angeschlossen. Das Vorkommen normaler Antikörper bildet gewissermaßen eine Stütze der Seitenkettentheorie. Denn es zeigt, daß diejenigen Vorgänge, welche in exzessiver Weise durch den Immunisierungsprozeß ausgelöst werden, in geringem Maße auch schon Folgen der normalen Zelltätigkeit sein können. Tatsächlich hat gerade die allgemeine Demonstration des Prinzips der komplexen Konstitution, das sich auch auf die lytischen Wirkungen der normalen Sera gesetzmäßig erstreckt, ganz im Sinne der Vorstellung Ehrlichs gesprochen, nach welcher die normalen Antikörper die physiologischen Analoga der Immunstoffe darstellen. Es besteht eine weitgehende Identität der Genese, Beschaffenheit und Wirkung. Das schließt natürlich Variationen mehr quantitativen Charakters, wie sie auch bei Immunstoffen anzutreffen sind, keineswegs aus.

Die ersten Angaben über derartige Differenzen, welche die Labilität (Sachs, Morgenroth, l. c. [24], [25]), die cytophile Avidität (Ehrlich und Morgenroth, l. c. [2]), Ehrlich und Sachs, l. c. [26]) betreffen, stammen aus dem Institute Ehrlichs. In einer Arbeit von Morgenroth und Sachs (l. c. [25]) wurde gezeigt, daß differenzierende Gesetzmäßigkeiten in Bezug auf die Kompletierbarkeit normaler und Immunambozeptoren nicht bestehen.

## III.

„Der Ambozeptor hat die wichtige Funktion, die distributiven Momente, welche im Organismus bezüglich der Komplementverteilung bestehen, und die keinen ausgesprochenen Charakter besitzen, in spezifischer Weise zu qualifizieren. Er stellt durch seine Verankerung an das empfindliche Substrat eine Monotropie der Komplemente her."

Mit diesen Worten zeichnete Ehrlich[72]), als ihn wesentlich schon die chemotherapeutischen Studien gefesselt hielten, kurz das Ergebnis

[71a]) Centralbl. f. Bakt., **LXI**, 113, **1911** [*394*].

[72]) Beitr. z. exp. Pathol. u. Chemother., S. 3, **1909** [*99*].

der im Verein mit Morgenroth begonnenen Studien über die Ambozeptorwirkung. Wie Ehrlich, glücklich geleitet durch die ihm „in frühen Jahren gewordene Überzeugung von der ausschlaggebenden Bedeutung des distributiven Moments für die Geschehnisse in der belebten Materie“ [72a]), den Mechanismus des cytotoxischen Synergismus auf das die Grundlage der Seitenkettentheorie bildende „Verankerungsaxiom“ erfolgreich zurückführte, ist im ersten Abschnitt dieses Kapitels geschildert worden. Wir müssen aber jetzt eine weitere Reihe von Untersuchungen betrachten, welche einer tieferen Analyse der dem Ambozeptor zukommenden Funktion gewidmet waren.

Der fundamentale experimentelle Ausdruck der distributiven Rolle des Ambozeptors ist der Bindungsversuch. Der Ambozeptor wird von dem homologen Antigen gebunden. Dem Bestreben Ehrlichs, Maßstäbe für die graduelle Schätzung der nachweisbaren biologischen Funktionen zu gewinnen, entsprach die Einführung der Begriffe „Ambozeptoreinheit“ und „Rezeptoreinheit“ in der Arbeit von Morgenroth und Sachs[73]). Sie bezeichnen die minimalen Werte, deren Zusammenwirken gerade zur vollständigen Hämolyse erforderlich ist. Voraussetzung ist dabei die Gegenwart eines Komplementüberschusses. Denn die Arbeiten von v. Dungern (l. c. [10]), Morgenroth und Sachs (l. c. [73]) haben ergeben, daß innerhalb gewisser Grenzen Ambozeptormenge und der zur Hämolyse erforderliche Komplementbedarf umgekehrt proportional sind. Über Variationen der quantitativen Verhältnisse bei verschiedenen Kombinationen berichtet insbesondere die Arbeit von Morgenroth und Sachs, in der gleichzeitig zur Erklärung, neben der Erörterung der Prinzipien einer Vielheit der Ambozeptoren, der Aviditätsdifferenzen und der Massenwirkung, auf die Bindungskapazität der Erythrocyten verwiesen wird.

So haben Ehrlich und Morgenroth (l. c. [5]) gezeigt, daß die am Ambozeptorgehalt der nach vollzogener Bindung gewonnenen Abgüsse meßbare Bindungskapazität in gewissen Fällen nur die Ambozeptoreinheit, in anderen bis zu 100 Ambozeptoreinheiten umfaßt. Dabei ergab sich auch, ähnlich wie in den Versuchen von Eisenberg und Volk an Agglutininen, eine Abhängigkeit der Bindungskraft von der dargebotenen Ambozeptormenge (l. c. [6]).

Die Versuche, welche zu diesen Ergebnissen geführt hatten, galten zugleich der Begegnung einer Mitteilung Bordets, welcher die Ambozeptorbindung in das Gebiet der Flächenanziehung einzureihen suchte, während Ehrlich von Anfang an die Auffassung vertrat, daß es sich bei

[72a]) Aus dem Vorwort zu „Beiträge zur exp. Pathol. und Chemotherapie“, **1909**.
[73]) Berl. klin. Wochenschr., H. 35, **1902** [*458*].

der Ambozeptorbindung um chemische Vorgänge im engeren Sinne handelte.

Bordet hatte nämlich beobachtet, daß bei fraktioniertem Blutzusatz zu einer bestimmten Menge hämolytischen Serums weniger Blut gelöst wird, als bei dem sofortigen Mischen der gesamten Blutmenge, und aus dem analogen Verhalten beim Färben von Filtrierpapier durch eine bestimmte Farbstoffmenge auf eine Ähnlichkeit der beiden Erscheinungen zugrunde liegenden Prozesse geschlossen. Durch die zahlenmäßige Analyse der Bindungsverhältnisse, wie sie von Ehrlich und Morgenroth (l. c. [5]) durchgeführt wurde, ergab sich jedoch, daß, zumal in Berücksichtigung des später noch zu erörternden p uralistischen Prinzips, die hier angeführten Erscheinungen mit der chemischen Betrachtungsweise und der Rezeptorenlehre im besten Einklang stehen. Wenn man die außerordentliche Spezifität der zwischen Antigenen und Antikörpern stattfindenden Reaktionen in Betracht zieht, so darf man wohl in der Tat der von Ehrlich inaugurierten strukturchemischen Betrachtungsweise den Charakter eines Prinzips zuerkennen, das die vielfältigen Erscheinungen von einem einheitlichen Gesichtspunkt aus zu ordnen erlaubt und den Fortschritten der Forschung ein heuristischer Wegweiser gewesen und geblieben ist.

Der chemischen Art der Ambozeptorbindung entspricht auch die Abhängigkeit von der Temperatur, und wenn diese auch in ausgesprochenem Maße, wie das Arbeiten von Ehrlich und Sachs (l. c. [26], [28]), sowie Sachs und Bauer[74]) dartun, hauptsächlich bei den normalen Ambozeptoren zu beobachten ist, so steht das im Einklang damit, daß ja gerade nach der Seitenkettentheorie die im Laufe der Immunisierung erzeugten Antikörper gewissermaßen eine Auslese der avidesten haptophoren Gruppen darstellen und daher eine der Temperaturerniedrigung trotzende Aviditätsstärke aufweisen können. Immerhin haben spätere Messungen im Laboratorium Morgenroths auch für Immunambozeptoren ergeben, daß in gleichen Zeiten um so mehr Ambozeptor gebunden wird, je höher die Temperatur ist.

In den durch Ehrlich veranlaßten Arbeiten hat sich nun auch ein großes Tatsachenmaterial ergeben, welches einerseits für den festen Charakter des der Ambozeptorbindung zugrunde liegenden chemischen Prozesses spricht, andererseits aber auch die rein distributive Funktion veranschaulicht, welche dem Ambozeptor, sofern die Komplementwirkung nicht nachfolgt, ebenso wie den Antitoxinen, zukommt. Dabei waren aber in der Arbeitsweise Ehrlichs keineswegs die Momente der Massenwirkung und der Reversibilität vernachlässigt worden. Schon im Beginn

[74]) Arb. a. d. Inst. f. exper. Ther., H. 3, 5, **1907** [*563*].

des Jahres 1903 wurde n einer Arbeit Morgenroths[75]) die Auffassung vertreten, „daß es sich bei der Bindung der Ambozeptoren um einen reversiblen Prozeß handelt, in dem aber der Gleichgewichtszustand so beschaffen ist, daß sich der in Lösung befindliche Anteil für gewöhnlich der Beobachtung und Messung entzieht". Maßgebend für diese Formulierung war die Entdeckung des sog. „Überspringens" der Ambozeptoren, d. h. des Übergangs eines verankerten Ambozeptorüberschusses auf intakte Erythrocyten. Das Phänomen wurde von Morgenroth mit dem sog. „Abbluten" gewisser Farbstoffe verglichen, das zugleich für die von Korschun und Morgenroth (l. c. [64]) analysierten Löslichkeitseigenschaften der in den Organextrakten vorhandenen Hämolysine ein Analogon darstellt. Die spätere Analyse des Überspringens der Ambozeptoren durch Morgenroth und seine Schüler ergab zugleich interessante Erweiterungen unserer Kenntnisse dieser Erscheinung und auch hier die maßgebliche Bedeutung der zwischen Rezeptoren und Ambozeptoren bestehenden Avidität. Aber die ersten Versuche Morgenroths hatten auch gezeigt, daß es durch einfaches Digerieren ambozeptorbeladener Blutkörperchen mit physiologischer Kochsalzlösung nicht gelingt, die gebundenen Ambozeptoren wiederzugewinnen. Der Charakter einer vollkommen reversiblen Reaktion, der von Arrhenius der Deutung der Antikörperreaktionen zugrunde zu legen versucht wurde, fehlt also auch hier, ebenso wie bei der Antitoxinwirkung. Die experimentellen Erfahrungen sprechen vielmehr auch bei der Ambozeptorbindung, selbst wenn man in einem primären Stadium einen Verlauf der Reaktion nach dem Massenwirkungsgesetz annehmen wollte, für das von Ehrlich erkannte Prinzip der sekundären Verfestigung bei der Antikörperbindung.

Erst durch chemische Veränderungen des Milieus gelingt es, den gebundenen Ambozeptor ohne Interferenz von chemischen Aviditäten wiederzugewinnen resp. seine Verankerung zu verhindern. Das zeigten u. a. die Arbeiten von Rondoni[76]) und Abramow[77]), nach denen durch Alkali, in geringerem Grade auch durch Säure, die Ambozeptorbindung aufgehoben, der gebundene Ambozeptor wieder extrahiert werden kann*).

Diese Tatsache welche es zugleich erlaubt, ambozeptorbeladene Blutkörperchen ad integrum zu restituieren, ergibt im Verein mit dem Phänomen des Ambozeptorübergangs, daß der Ambozeptor an und für sich für die Zelle ohne jeden Schaden ist. So sprechen auch diese Befunde

*) In diesen Arbeiten finden sich auch Angaben über den Einfluß von Säure und Alkali auf die Ambozeptoren.

[75]) Münch. med. Wochenschr., H. 2, **1903** [*449*].

[76]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **VII**, 515, **1910** [*530*].

[77]) Ebenda, **VIII**, 145, **1910** [*213*].

für die Anschauung Ehrlichs, daß der Ambozeptor zunächst lediglich die Funktion hat, das Antigen zu fesseln, aber als solcher für das Leben der Zelle ohne Bedeutung ist. Die cytotoxische Wirkung entsteht erst durch das Hinzukommen des Komplements.

Wie nun der Ambozeptor die Vermittlung der Komplementwirkung erreicht, hat Ehrlich, wie schon erwähnt, in den Worten ausgedrückt: „Er stellt durch seine Verankerung an das empfindliche Substrat eine Monotropie der Komplemente her." Das ist eine nur den Ergebnissen des Experiments entsprechende Formulierung. Denn Ehrlich und Morgenroth (l. c. [1]) haben ja gezeigt, daß die Komplemente zu den intakten Zellen in keinerlei Beziehung stehen und von ihnen nicht gebunden werden, daß hingegen die ambozeptorbeladene Zelle das Komplement bindet und seiner Wirkung anheimfällt. Dem entspricht es auch, daß, wie Bordet feststellte, mit der eingetretenen Hämolyse das Komplement dem Nachweise entzogen ist. Bordet hat weiterhin gezeigt, daß dieser Komplementverbrauch sich sogar gleichzeitig auf sämtliche Komplementfunktionen des Serums erstrecken kann. Es steht dieser Befund mit einer Mehrzahl von Komplementen, wie sie Ehrlich angenommen hatte, nicht im Widerspruch; denn es ist, wie man sich den Vorgang der Komplementverankerung auch vorstellen mag, durchaus denkbar, daß die Monotropie, welche die Komplemente durch die Fesselung des Ambozeptors an das empfindliche Substrat erfahren, sich nicht auf ein besonderes Komplementindividuum, sondern auf eine Mehrheit erstreckt (l. c. [14], [19], [50]).

Wie sich Ehrlich das Wesen dieses Prozesses vorstellt, das ergibt sich aus dem Inhalt der gewöhnlich als „Ambozeptortheorie" bezeichneten Ausdehnung der strukturchemischen Betrachtungsweise auf die Komplementbindung. Die Erweiterung, welche hierdurch die Theorie der Antikörperwirkung erfahren hat, stellt eine logische Konsequenz des Grundgedankens dar, welcher die Vermittlung der Distribution in chemischen Kräften sieht. So ergab sich als weiteres Mittel des Verständnisses der Erscheinungen die Heranziehung des durch die Reaktionen der organischen Chemie wohl fundierten Prinzips der Aviditätsverschiebung (l. c. [19], [50], [72] und [78])). Nach der Betrachtungsweise Ehrlichs greift nämlich das Komplement an die komplementophilen Gruppen des Ambozeptors an, und diese Auffassung findet ja auch in der Bezeichnung der Rezeptoren III. Ordnung als Ambozeptoren mit einer cytophilen und einer komplementophilen Avidität ihren Ausdruck. Jedoch schlossen Ehrlich und

[78]) Robert Koch-Festschrift, S. 509, **1903** [*79*].

Morgenroth (l. c. [1]) in scharfsinniger Zusammenfassung schon frühzeitig, daß die komplementophile Avidität des freien Ambozeptors nur eine sehr geringe sein kann, und daß daher, wie es in einer Arbeit von Morgenroth (l. c. [79]) formuliert wurde, „im Serum Ambozeptor und Komplement bis auf einen praktisch zu vernachlässigenden, d. h. nicht zur Hämolyse ausreichenden Anteil nebeneinander existieren". Zur Erklärung des Kältetrennungsversuchs ist daher, wie in den Arbeiten von Morgenroth[79][80]) gegenüber Gruber gezeigt wurde, die Annahme einer Dissoziation bei Temperaturerniedrigung, die für eine endothermische, also unter Wärmeverbrauch vor sich gehende Verbindung sprechen würde, nicht erforderlich. Da mithin Ambozeptor und Komplement im allgemeinen nur in lockerer Beziehung zueinander stehen, das ambozeptorbeladene Substrat aber das Komplement mit starker Energie an sich reißt, so ergibt sich als klärende und durch zahlreiche Beispiele der Chemie fundierte Hilfsannahme, daß der komplementophile Ambozeptorapparat durch die Reaktion der cytophilen Gruppe eine erhebliche Aviditätssteigerung erfährt, welche die Ursache für die nunmehr ermöglichte monotrope Distribution des Komplements darstellt. Dieses Moment der Aviditätssteigerung bildet in der Betrachtungsweise Ehrlichs (l. c. [78], [72] u. [81]) [82])) den geistigen Ausdruck für die Tatsache, daß der Komplex Antigen + Ambozeptor in bezug auf das Komplement andere Eigenschaften besitzt, als sie jeder der beiden Komponenten zukommen. Die Ambozeptorkonzeption ist daher theoretisch nur in der Deutung des Zustandekommens dieser Veränderung. Die letztere selbst aber ist der tatsächliche Inhalt der grundlegenden Experimentalanalyse Ehrlichs und Morgenroths. Die theoretische Fassung wurde auch im Verein mit der Annahme einer Mehrheit von Komplementen den Erscheinungen gerecht. Der von Bordet entdeckten wichtigen Tatsache, daß der mit der Komplementwirkung verbundene Komplementverbrauch sich auf alle Komplementfunktionen erstreckt, entsprach die schon von Ehrlich und Morgenroth (l. c. [4], [6]) gezogene Konsequenz, daß die Immunsera eine Reihe verschiedener, mit differenten komplementophilen Gruppen versehener Ambozeptoren enthalten. Es ist nur eine Modifikation dieser Auffassung, wenn Ehrlich eine weitgehende Übereinstimmung des komplementophilen Apparates aller von einer Tierart stammenden Ambozeptoren annahm, dafür aber dem Ambozeptor eine Polyzeptorkonstitution vindizierte, die durch eine Mehrzahl von komplementophilen Gruppen an einem Anti-

[79]) Wien. klin. Wochenschr., H. 43, **1903** [*451*].
[80]) Ebenda, H. 5, **1904** [*452*].
[81]) Handbuch der Immunitätsf., **I**, 1, **1907** [*98*].
[82]) Studies in Immunity (Ehrlich), II. edition, S. 577, **1910** [*119*].

körpermolekül charakterisiert ist. Diese Möglichkeit ist schon von Ehrlich und Morgenroth (l. c. [6]) hervorgehoben worden, sie wurde dann in plastischer Formulierung in der Arbeit von Ehrlich und Marshall[83]) bevorzugt.

Maßgebend für die Entscheidung Ehrlichs zugunsten der Polyzeptorhypothese war die Analyse des Schwindens verschiedener Komplementfunktionen bei der Komplementbindung. Ehrlich unterschied, zum ersten Male in der Arbeit von Ehrlich und Sachs (l. c. [50]), zwischen „dominanten" und „nicht dominanten" Komplementen und bezeichnete als dominant diejenigen Komplemente, welche im gegebenen Falle zur Wirkung gelangen, als nicht dominant solche, welche verbraucht werden, ohne auf das Substrat zu wirken. In der Arbeit von Ehrlich und Sachs wurde gezeigt, daß unter Umständen das dominante Komplement erhalten sein kann, wenn infolge der Ambozeptorwirkung nicht dominante Komplemente bereits erheblich gebunden sind.

Der Versuch verdient auch insofern besondere Erwähnung, als hier zum ersten Male gezeigt ist, daß Komplementbindung an Blutkörperchen durch Ambozeptorwirkung erfolgen kann, ohne daß Hämolyse eintritt. Es ist also Differenzen zwischen Komplementbindung und Cytolyse, aus denen man später eine prinzipielle Scheidung zwischen komplementbindenden Antikörpern und Ambozeptoren ableiten zu müssen glaubte, bereits von Ehrlich in der Fassung des Problems entsprochen worden, wozu auch die weiteren Mitteilungen von Browning (l. c. [67]), Sachs und Bauer (l. c. [74]) Beiträge geliefert haben.

Andererseits hat aber Ehrlich aus gemeinschaftlich mit Marshall (l. c. [83]) angestellten Versuchen geschlossen, daß in anderen Fällen die Bindung nicht dominanter Komplemente von der Bindung des dominanten Komplements abhängig ist. Die Versuchsanordnung verdient wegen der für so viele Experimente Ehrlichs bezeichnenden Kombination von sinnreicher Konzeption und einfacher Methodik Erwähnung.

Es handelte sich um eine Ascitesflüssigkeit, in der bereits Marshall und Morgenroth (l. c. [44]) eine gegen eine bestimmte Komplementfunktion des Meerschweinchenserums isoliert gerichtete antikomplementäre Wirkung erwiesen hatten. Als nun Ehrlich und Marshall dasjenige System von Blutkörperchen und Ambozeptor wählten, bei welchem das Partialantikomplement lediglich gegen die dominante Komplementfunktion gerichtet war, zeigte sich, daß durch dessen Interferenz auch die sonst stattfindende Verankerung nicht dominanter Komplemente verhindert wird. Es mußte also, so schloß Ehrlich, in diesem Falle die Bindung des dominanten Komplements die Vorbedingung für die Reaktion des Polyzeptors mit den nicht dominanten Komplementen gewesen sein.

Die Ursache derartiger indirekter Beeinflussung der Reaktionsfähigkeit erblickte Ehrlich wiederum in dem der synthetischen Chemie ent-

[83]) Berl. klin. Wochenschr., H. 25, **1902** [*191*].

lehnten Prinzip der Aviditätsverschiebung im positiven oder negativen Sinne, also in dem gleichen Moment, das die durch Ambozeptorwirkung vermittelte Komplementbindung als Folge der Aviditätssteigerung erklärt und der strukturchemischen Betrachtung Ehrlichs entspricht.

Die Ambozeptorkonzeption wußte Ehrlich auf Grund seines allgemeinen Prinzips, nach dem die Antikörper nur freigewordene Werkzeuge des Zellprotoplasmas darstellen, in geistvoller Perspektive biologisch verständlich zu machen. Er erblickt gerade in dem Ambozeptortypus eine überaus zweckmäßige Gestaltung des Nutrizeptors, der die leicht zerstörbaren fermentartig wirkenden Komplemente

„nicht als konstituierenden Bestandteil besitzt, sondern sie im Bedarfsfall jeden Augenblick aufnehmen kann. Diese Aufnahmefähigkeit beruht nun gerade darauf, daß in dem Moment, in welchem die haptophore Gruppe einen Fang ausgeführt hat, die Erhöhung der Avidität der komplementophilen Gruppe eintritt, die die Verankerung der benötigten fermentähnlichen Körper bedingt.

Wenn wir nun bedenken, daß beim Ambozeptortypus immer eine große Zahl verschiedenartiger Komplemente erfordert wird, werden wir in der gesamten Einrichtung einen höchst wunderbaren Sparvorgang des tierischen Organismus erblicken dürfen“ (Ehrlich, l. c. [78]).

Die Auffassung der Ambozeptorwirkung setzt durch die physiologische Rolle, welche sie den Rezeptoren 3. Ordnung vindiziert, natürlich um so mehr voraus, daß die Komplemente frei im Blut existieren, eine vielfach diskutierte Frage, die aber wohl nach zahlreichen Erfahrungen als im positiven Sinne entschieden gelten kann. Aus dem Institute Ehrlichs brachten die Arbeiten von v. Dungern (l. c. [10]), Korschun und Morgenroth (l. c. [64]), Sachs (l. c. [47]) Beiträge in diesem Sinne.

Die Untersuchungen von v. Dungern beziehen sich auf die „Phagocytose und globulizide Immunität“*), diejenigen von Korschun und Morgenroth ergaben, daß es sich bei den lytischen Stoffen der Organextrakte nicht um Komplemente handelt, und in der Arbeit von Sachs wurden durch die Beobachtung der im Laufe der Blutimmunisierung eintretenden Hämoglobinämie und Hämoglobinurie intravasal erfolgende Komplementwirkungen festgestellt.

Wenn nun die spezifische Bindung zwischen Ambozeptor und Zelle, wie überhaupt diejenige zwischen Antigenen und Antikörpern, heute außerhalb der Diskussion steht und eine zu den Grundpfeilern der Immuni-

*) Zur Lehre von der Phagocytose haben auch die Beiträge von M. Neißer und Guerrini[83a]), Bechhold[83b]), Boehncke (l. c. [113] u. [83c]) aus dem Institute Ehrlichs wertvolle Beiträge geliefert.

[83a]) Arb. a. d. Inst. f. exp. Ther., H. 4, 3, **1908** [*480*].
[83b]) Münch. med. Wochenschr., H. 34, **1908** [*258*].
[83c]) Centralbl. f. Bakt., **LXVII**, 586, **1913** [*311*].

tätslehre gehörende Tatsache geworden ist, so läßt freilich die Annahme direkter Beziehungen zwischen Ambozeptor und Komplement Raum zu Meinungsverschiedenheiten, da der direkte Beweis für eine Ambozeptorverbindung des Komplements nur durch die Darstellung eines lytischen Reaktionsproduktes zu erbringen wäre, was aber bisher nicht gelungen ist. So ist der Ambozeptortheorie in dieser Hinsicht insbesondere von Bordet, dem hervorragenden Leiter des Brüsseler Pasteur-Institutes, eine andersartige Auffassung gegenübergestellt worden, welche direkte Beziehungen zwischen Ambozeptor und Komplement negiert und eine Adsorption des Komplements an das durch die Ambozeptorwirkung in seinen physikalischen Eigenschaften veränderte Substrat annimmt („Sensibilisierungstheorie"). Die Frage „Ambozeptor oder substance sensibilisatrice" hat lange Zeit hindurch die Arbeiten dieses Gebietes der Immunitätsforschung beherrscht. Wenn aber der Streit von den Führern der Wissenschaft geleitet wird, wie es hier der Fall war, so tritt die Frage, ob die Theorie richtig ist oder nicht, bei retrospektiver Betrachtung mehr in den Hintergrund, und als dauernder Besitz bleibt das Neuland, das durch ingeniöses Ersinnen im Widerstreit der Meinungen erschlossen wurde. „Nichts kann ja einer wissenschaftlichen Frage mehr nützen, als wenn Meinungsverschiedenheiten auftauchen, welche auf Grund experimenteller Forschung zu kritischer Beleuchtung und zu weiterer Vertiefung des Gegenstandes führen" (Ehrlich[83d]). Wenn wir nun das große Tatsachenmaterial betrachten, für dessen Ergründung die Ambozeptortheorie und das Bestreben, sie zu stützen, der heuristische Ansporn gewesen ist, so können freilich manche Erscheinungen, welche von Ehrlich und seiner Schule als Glieder des Beweises für direkte Beziehungen zwischen Ambozeptor und Komplement aufgedeckt wurden, diese Beweiskraft beim Fortschreiten der experimentellen Forschung nicht mehr beanspruchen.

In diesem Sinne muß zunächst die wichtige Entdeckung der Komplementablenkung bei der bakteriziden Serumwirkung durch einen Überschuß von Immunserum von M. Neißer und Wechsberg (l. c. [33]) genannt werden. Die Auffindung dieses Phänomens war für Theorie und Praxis des bakteriziden Reagenzglasversuches gleich bedeutungsvoll, und durch die experimentelle Analyse, zu der auch die Arbeit Lipsteins[84]) beitrug, ist mit aller Evidenz gezeigt worden, daß es sich um eine Ablenkung des Komplements vermittels immunisatorisch erzeugter Ambozeptoren handelt. Nur muß man die von anderer Seite hervorgehobene Möglichkeit in Betracht ziehen, daß die Komplementbindung hierbei nicht durch freie Ambozeptoren, sondern durch das Zusammenwirken von gelösten Antigenen und Antikörpern erfolgt.

[83d]) Aus dem Vorwort zu „Gesammelte Arbeiten zur Immunitätsforschung", Berlin **1904**.

[84]) Centralbl. f. Bakt., **XXXI**, 460, **1902** [*408*].

Ebenso kann heute ein von Morgenroth[85]) beschriebenes Experiment nicht mehr im Sinne einer Komplementablenkung durch die Kombination hämolytischer Ambozeptoren mit Antiambozeptoren gedeutet werden, wenn es auch wahrscheinlich ist, daß es sich damals bereits um die aus dem Zusammenwirken von Antigen und Antikörper resultierende Komplementbindung handelte, also um ein entsprechendes antikomplementäres Prinzip.

Auch die umfassenden Studien über Schlangengifte, aus denen Ehrlich ursprünglich die gelungene Herstellung eines dem Ambozeptor-Komplementkomplex analogen Reaktionsproduktes schließen zu können glaubte, haben eine andersartige Deutung erfahren (vgl. hierzu die Ausführungen im Kapitel „Tierische Gifte", C, 9).

Endlich wird man auch das eigenartige Verhalten in der von Ehrlich und Sachs (l. c. [26]) beschriebenen Kombination, welche die Hämolyse des Meerschweinchenblutes durch das Zusammenwirken von aktivem Pferdeserum und inaktivem Rinderserum betrifft, nicht als ein absolut beweiskräftiges Argument im Sinne der Ambozeptortheorie gelten lassen müssen. Es würde hier zu weit führen, auf diese komplizierten Verhältnisse näher einzugehen. Die genannte Arbeit von Ehrlich und Sachs hat zu interessanten Untersuchungen von Bordet und Gay, sowie Bordet und Streng Anregung gegeben, durch welche wiederum eine weitere Mitteilung von Sachs und Bauer (l. c.[74]) veranlaßt wurde. Eine endgültige Deutung des Erscheinungskomplexes, welchen Ehrlich und Sachs in dem Sinne auffaßten, daß in bestimmten Fällen erst eine Vereinigung zwischen Ambozeptor und Komplement der cytophilen Reaktionsfähigkeit vorangehen muß, dürfte noch nicht gegeben erscheinen. Immerhin schließen auch andersartige Erfahrungen (vgl. hierzu auch Sachs (l. c. [28])) die Möglichkeit keineswegs aus, daß insbesondere bei normalen Ambozeptoren die Ambozeptorenbindung erst durch die Interferenz des Komplements ermöglicht oder verstärkt wird.

Andererseits würden wir uns von der kritischen Betrachtung, welche wir hier der Besprechung zugrunde legen, entfernen, wollten wir etwa daraus, daß ein untrüglicher direkter Beweis für direkte Beziehungen zwischen Ambozeptor und Komplement fehlt, eine Schlußfolgerung gegen die Ambozeptortheorie ziehen. Es muß daher hervorgehoben werden, daß ein Beweis gegen die Ambozeptortheorie im Widerstreit der Meinungen nicht erbracht worden ist, daß es sich vielmehr im wesentlichen um negative Momente handelt, welche zu einer andersartigen Deutung der im Sinne der Ambozeptortheorie angeführten Erscheinungen veranlassen könnten. Wenn man aber auch von direkten Beweisgliedern abstrahiert, so sprechen doch eine Reihe von Erfahrungen dafür, daß Beziehungen zwischen Ambozeptoren und Komplementen im Sinne Ehrlichs bestehen. So hat Ehrlich (l. c. [6], [78]) wiederholt darauf hingewiesen, daß meist die günstigsten Bedingungen für die Kompletierung bei homologer Herkunft von Komplement und Ambozeptor vorhanden sind. Erinnert sei auch an die oftmals vorhandene Proportionalität zwischen Ambo-

[85]) Centralbl. f. Bakt., **XXXV**, 501, **1904** [*453*].

zeptormenge und Komplementverbrauch, wofür schon Versuche von Muir Beispiele ergeben haben. Hierher gehört auch die in einem Beitrag von Wechsberg (l. c. [34]), behandelte Tatsache, daß die von Vögeln gewonnenen bakteriziden Ambozeptoren nicht durch Kaninchenserum kompletiert werden, dagegen durch Vogelserum, während sich entsprechende Kaninchenantisera umgekehrt verhalten. In Konsequenz der aus solchen Aktivierungsversuchen sich ergebenden Erfahrungen hat Ehrlich (l. c. [13]) schon frühzeitig gewisse Grenzen für die bakterizide Heilserumwirkung erkannt und empfohlen, bakterizide Heilsera von Tierarten zu gewinnen, welche dem Menschen möglichst nahe stehen (Affen).

Auch durch die Erfahrungen M. Neißers und Wechsbergs (l. c. [33]) über die Komplementablenkung, durch die Versuche v. Dungerns (l. c. [10]) über die antikomplementäre Wirkung der Organzellen und durch die Erkenntnis zahlreicher anderer, die lytische Serumwirkung hemmender Faktoren waren eine Reihe von Schwierigkeiten für die bakterizide Serumtherapie gekennzeichnet, für deren Begegnung schon in dem Bericht von Dönitz[86]) das bisher leider nicht erfüllbare Postulat des Auffindens ergiebiger Komplementquellen hingestellt wurde.

Die endgültige Lösung des Wirkungsmechanismus bei den cytolytischen Antikörperfunktionen ist durch die in den letzten Jahren entdeckte komplexe Konstitution der Komplemente erheblich komplizierter geworden, und man wird daher vorläufig um so vorsichtiger in der theoretischen Deutung sein müssen. Wie dem aber auch sei, als Grundlage des Verständnisses bleibt die von Ehrlich und Morgenroth ermittelte Tatsache, daß die Beziehungen zum Komplement im allgemeinen erst durch die Ambozeptorbindung ihren wesentlichen Ausdruck erfahren. Auf Grund der strukturchemischen Betrachtungsweise muß dabei die Annahme Ehrlichs, daß das Komplement an den Ambozeptor verankert wird, als die einfachste und plausibelste Deutung erscheinen. Denn eine chemische Avidität zwischen den nativen Blutkörperchen und dem Komplement besteht eben nachweislich nicht, und man müßte daher eine durch die Ambozeptorwirkung ganz neu entstehende Affinität des Zellstromas zum Komplement supponieren.

Tatsächlich erscheint der Gegensatz zwischen Ambozeptortheorie und Sensibilisierungstheorie nur als ein Teil jenes Widerstreites der Meinungen, welcher in der Deutung der Antikörpererscheinungen nach chemischen Gesichtspunkten oder nach den Prinzipien der physikalischen Adsorption besteht.

Daß in den Arbeiten des Ehrlichschen Instituts auch die Analyse von Einflüssen physikalischer oder physikalisch-chemischer Natur eine bedeutsame Rolle spielt, das zeigen die Arbeiten über die Agglutination von M. Neißer

[86]) Klin. Jahrbuch, **VII**, 359, **1899** [*337*].

und Friedemann[87][88]), Bechhold[89]) und eine Reihe weiterer Beiträge von Bechhold[90—93]), Sachs und Rondoni (l. c. [53], [54]), Sachs (l. c. [48], [70]), Nathan[94]) u. a., welche physikalisch-chemische Probleme, teils an und für sich, teils in Beziehungen zur Immunitätsforschung (Agglutination, Wassermannsche Reaktion, Kieselsäurehämolyse) behandeln.

Ehrlich (l. c. [72]) hat wiederholt hervorgehoben, daß kolloidale Natur und chemische Reaktionsfähigkeit durchaus nicht Begriffe sind, die sich ausschließen. Gerade das das Gesamtgebiet der Antikörperwirkungen charakterisierende spezifische Gepräge stand für Ehrlich jedoch stets außerhalb der durch physikalische Momente gegebenen Erklärungsmöglichkeiten, und zweifellos wird die strukturchemische Betrachtungsweise Ehrlichs dem Verständnis der Antikörperreaktionen am besten gerecht. In wie hohem Maße befruchtend die von Ehrlich inaugurierte Methode der Konzeption und der für das Experiment maßgebenden Fragestellung gewirkt hat, dafür legt die Entwicklung der experimentellen Hämolysinforschung in den letzten drei Lustren beredtes Zeugnis ab. Hier verspürt man überall die Gedankenwelt Ehrlichs und weiß sie in ihrem heuristischen Wert zu schätzen.

---

Das bemerkenswerteste Beispiel dafür, wie das theoretische Studium der Immunitätsreaktionen zu praktisch bedeutsamen Erfolgen führt, zeigt die Anwendung, welche das Prinzip der Komplementbindung durch die tiefgründige Analyse des ihm zugrunde liegenden Wirkungsmechanismus als serodiagnostische Methode erfahren hat. Die grundlegenden Feststellungen Ehrlichs und Morgenroths, daß der Ambozeptor, an und für sich unfähig das Komplement zu binden, nach seiner Verankerung an das empfindliche Substrat jene starke Monotropie für das Komplement herstellt, war im Verein mit der von Bordet entdeckten Tatsache des allgemeinen Komplementverbrauchs bei dieser Komplementbindung die experimentelle Grundlage für das Komplementbindungsverfahren, das bereits Bordet und Gengou zu einem indirekten Ambozeptornachweis benutzten.

Obgleich in Verfolg der serodiagnostischen Arbeiten von Bordet und Gengou der letztere nur wenig später über die interessante Tatsache

---

[87]) Münch. med. Wochenschr., H. 11, **1904** [*478*].
[88]) Ebenda, H. 19, **1904** [*479*].
[89]) Zeitschr. f. physikal. Chemie, **XLVIII**, 385, **1904** [*251*].
[90]) Wien. klin. Wochenschr., H. 25, **1905** [*253*].
[91]) Zeitschr. f. physik. Chemie, **LII**, 185, **1905** [*254*].
[92]) Ebenda, **LXIV**, 328, **1908** [*259*].
[93]) Gedenkbuch van Bemmelen, **1910** [*261*].
[94]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **XIX**, 216, **1913** [*463*].

berichten konnte, daß auch die durch Immunisierung mit gelösten Eiweißstoffen erhaltenen Antisera nicht nur die schon seit längerer Zeit bekannten und auch von Ehrlich und Morgenroth frühzeitig beobachteten Präzipitine enthalten, sondern auch Ambozeptorwirkung ausüben können, blieb diese wichtige Feststellung Gengous längere Zeit unbeachtet, ohne eine serodiagnostische Verwertbarkeit zu finden. Die Ursache hierfür ist wohl nicht zum wenigsten darin gelegen, daß sowohl die Schule Ehrlichs, wie auch diejenige Bordets die Ansicht vertraten, daß man immunisatorisch Antikörper der Komplemente erzeugen kann. Waren doch in der Tat zuerst von Ehrlich und Morgenroth (l. c. [4], [13]) und unabhängig davon von Bordet antikomplementäre Immunserumwirkungen beschrieben und auf die immunisatorische Erzeugung von Antikomplementen bezogen worden. Die Annahme von Antikomplementen mußte aber augenscheinlich eine nicht unerhebliche Komplikation für die Übersicht der in dem erörterten Gengouschen Versuch sich abspielenden Reaktionen bedeuten, und so bedurfte es erst der verdienstvollen, aus dem Laboratorium R. Pfeiffers hervorgegangenen, Arbeit Moreschis, in der gezeigt wurde, daß die antikomplementäre Funktion der Immunsera auf dem Zusammenwirken von zwei Substanzen beruhen kann, um zu einer einheitlichen Auffassung der antikomplementär gerichteten Immunserumwirkungen zu gelangen. Es ist wohl auf den Einfluß von Ehrlichs plastischer Konzeption der Ambozeptorwirkung zurückzuführen, daß in seinem Institut die Überbrückung zwischen den damals vielfach in Vergessenheit geratenen Beobachtungen Gengous und der hauptsächlich der Antikomplementfrage gewidmeten Arbeit Moreschis stattfand. Denn gerade vom Standpunkte der Ambozeptortheorie aus mußte dem Gengouschen Phänomen und der Antikomplementwirkung ein prinzipiell einheitlicher Charakter vindiziert werden, die chemische Funktion komplementophiler Gruppen, nur mit dem graduellen Unterschiede, daß es sich in dem einen Falle um eine durch die Antigenverbindung erfolgende Aviditätssteigerung, im anderen um primäre Avidität handelt. So entstand die Arbeit von M. Neißer und H. Sachs[95]), in der zugleich die Anwendbarkeit der Komplementbindung in quantitativer Weise für die Differenzierung von Eiweißantigenen in Form einer exakt arbeitenden Laboratoriumsmethode demonstriert werden konnte. Man darf diese Mitteilung wohl als den Ausgangspunkt der jetzt rasch erfolgenden Entwicklung bezeichnen, welche die Heranziehung des Komplementbindungsprinzips für die Zwecke der Serodiagnostik erfahren hat. Es ist noch

[95]) Berl. klin. Wochenschr., H. 44, **1905** [*483*].

in frischer Erinnerung, wie A. v. Wassermann die Komplementbindungsmethode nunmehr auf gelöste Bakterienantigene anwandte und durch großzügige Übertragung des Verfahrens auf die Infektionskrankheiten unter Mitarbeit von A. Neißer und C. Bruck in der Entdeckung der Serodiagnostik der Syphilis die bedeutungsvollste Anwendungsform des methodologischen Prinzips schuf.

Experimentelle Untersuchungen über antihämolytische Serumfunktionen spielen schon in den ersten Arbeiten Ehrlichs und Morgenroths (l. c. [2–6]) eine bedeutsame Rolle. In scharfer Differenzierung der bestehenden Möglichkeiten erkannten sie frühzeitig den Bindungsversuch als ein auch heute, ebenso wie früher, gültiges einfaches Mittel der Unterscheidung zwischen Antiambozeptor- und Antikomplementwirkung, wobei das Verhalten der gewonnenen Blutsedimente gegenüber geeignetem Komplement den Maßstab der Beurteilung bildet.

Derart haben Ehrlich und Morgenroth auch im Normalserum Antiambozeptorwirkungen, M. Neißer und Wechsberg (l. c. [33]) normale Antikomplementfunktionen nachgewiesen, die nach Marshall und Morgenroth (l. c. [45]) auch von Transsudaten und Exsudaten ausgeübt werden. Die Tatsache, daß auch normale Körperflüssigkeiten antikomplementär wirken können, führt in Gestalt des Bindungsversuchs, wie in einer Arbeit von Morgenroth (l. c. [27]) erkannt wurde, zu einer rationellen Methode des Ambozeptornachweises, wenn die Ambozeptorwirkung beim sofortigen Mischen mit Komplement durch die gleichzeitige Interferenz von Antikomplementen larviert wird. Die Bedeutung dieses Verfahrens hat sich in vielen Fällen, so insbesondere in den Versuchen Morgenroths beim Nachweis von Ambozeptoren in dem durch Seruminjektion gewonnenen Antiserum, wie auch in den Experimenten von Marshall und Morgenroth (l. c. [45]) zum Nachweis von Ambozeptoren in Transsudaten und Exsudaten eklatant gezeigt. Das gleiche methodologische Prinzip führte auch in den Arbeiten von Sachs[96]) [97]) über die von Pfeiffer und Friedberger beschriebenen sog. „antagonstischen" Serumwirkungen zu ihrer Charakterisierung als antikomplementäre Funktionen.

Dabei wurden in den Arbeiten Ehrlichs und seiner Mitarbeiter durchaus die verschiedensten Möglichkeiten, welche eine antihämolytische Serumwirkung bedingen können, berücksichtigt. So sprechen schon Ehrlich und Sachs (l. c. [26]) von „antireaktiven" Funktionen, welche, wie es bei einer Hypertonie des Mediums der Fall ist, die Komplementbindung hemmen, ohne eine direkte Reaktion mit den Komplementen zu bedingen. Andererseits ergab sich aus der strukturchemischen Betrachtungsweise Ehrlichs, welche ja mit mindestens drei haptophoren Gruppen bei den das Hämolysin konstituierenden Komponenten rechnet, eine scharfe Differenzierung der Wirkungsmechanismen. In Konsequenz der Ambozeptortheorie können auch Modifikationen der lytischen Stoffe in Form

[96]) Deutsche med. Wochenschr., H. 18, **1905** [*546*].
[97]) Centralbl. f. Bakt., **XL**, 388, **1906** [*549*].

von Komplementoiden, wie auch als cytophile oder komplementophile Ambozeptoide zur Hemmung des Zusammenwirkens führen. Gerade derartige Überlegungen haben vielfach zur experimentellen Analyse angeregt und zur Aufdeckung neuer Tatsachen geführt. Die Funktion der theoretisch postulierten komplementophilen Ambozeptoide würde derjenigen von „Antikomplementen" entsprechen, die ja Ehrlich und Morgenroth (l. c. [5]) als Ambozeptoren mit besonders starker Avidität zum Komplement aufgefaßt haben.

Die tatsächlich zahlreich vorhandenen normalen Antikomplementfunktionen konnten daher auf Grund der Ambozeptortheorie von vornherein nicht überraschen, wenn man freilich auch hierbei in manchen Fällen an antireaktive Wirkungen, die Bordet als Erklärungsprinzip bevorzugt, oder auch an eine Komplementbindung durch das Zusammenwirken von Antigen mit normalen Antikörpern im Sinne Wassermanns denken kann. Methodologisch handelt es sich in allen diesen Fällen um den gleichen Mechanismus, der durch den Ehrlich-Morgenrothschen Bindungsversuch von der Antiambozeptorwirkung unterschieden werden kann. Besonders interessant ist in dem hier skizzierten Sinne die Arbeit von Marshall und Morgenroth (l. c. [45]), welche die verschiedenartigen, durch normales Blutserum verursachten Hemmungsphänomene analysiert und differenziert.

Was die immunisatorische Bildung von Antilysinen anlangt, so ist von Ehrlich (l. c. [13]) präzisiert worden, daß bei der Injektion von hämolytischem Serum entsprechend der theoretischen Annahme von drei haptophoren Gruppen (der cytophilen und komplementophilen Ambozeptorgruppe, sowie der haptophoren Komplementgruppe) die Bildung von drei verschiedenen Antikörpern denkbar ist. Es ist schon hervorgehoben worden, daß der Nachweis von Antikomplementen in diesem ursprünglichen Sinne heute nicht mehr als erbracht gelten kann. Es ist dabei aber nicht ohne Interesse, daß Ehrlich und Morgenroth die Antikomplemente von vornherein als Ambozeptoren auffaßten, deren komplementophilen Reaktionen sie nur eine besondere starke Avidität vindizierten. Heute wissen wir, daß diese komplementbindenden Antikörper entsprechend ihrer Entstehungsart diese starke Avidität zum Komplement im allgemeinen nicht von vornherein besitzen, sondern erst durch ihre Verankerung an das korrespondierende Eiweißantigen erfahren. Die Entdeckung Ehrlichs und Morgenroths (l. c. [5]) von Autoantikomplementen bei der Immunisierung dürfte so als das erste Beispiel einer Komplementbindung in vivo erscheinen.

Die von ihnen analysierten, im Sinne der Antiambozeptorwirkung zu deutenden Erscheinungen hatten Ehrlich und Morgenroth (l. c. [6]) zunächst als den Ausdruck einer Reaktion der cytophilen Ambozeptorgruppe aufgefaßt. Jedoch haben später Ehrlich und Sachs[98]) unter

[98]) Berl. klin. Wochenschr., H. 19/20, **1905** [*208*].

Berücksichtigung der von Pfeiffer und Friedberger, sowie Bordet festgestellten Tatsachen die Deutung dahin modifiziert, daß es sich bei den bisher bekannten Wirkungen von Immunantiambozeptoren um Antikörper anderer Ambozeptorgruppen handelt. Der Nachweis derartiger Antiambozeptoren, welche nicht in die zytophilen Ambozeptorgruppen eingreifen, entsprach mithin der von Ehrlich vorausgesagten Möglichkeit verschiedener Antiambozeptorarten, und Ehrlich und Sachs haben diese Antiambozeptoren daher als Antikörper des komplementophilen Apparates bezeichnet. Jedenfalls muß man auf Grund dieser Erscheinungen, die in einem Beitrag von Browning und Sachs[99]) auch unter Berücksichtigung der Komplementbindung von letzterer scharf differenziert werden konnten, den Ambozeptoren neben der cytophilen Gruppe noch weitere haptophore Gruppen vindizieren, denen ein ausgesprochener Artcharakter zukommt. Dieser Artcharakter entspricht aber auch der Formulierung Ehrlichs, welcher eine weitgehende Übereinstimmung der komplementophilen Gruppen bei den von einer bestimmten Tierart stammenden Ambozeptoren annahm. Er stellt einen experimentellen Beweis dafür dar, daß dem Ambozeptor noch andere Aviditäten neben der cytophilen zukommen müssen, und spricht dadurch, daß die am Ambozeptor stattfindende Reaktion die Komplementwirkung ausschalten kann, zugleich für innige Beziehungen zwischen Ambozeptor und Komplement.

In ähnlicher Weise sind auch Erscheinungen zu verwerten, mit deren Kenntnis uns zunächst die Arbeit von Friedberger und Moreschi über Hämolyse beschleunigende Immunstoffe bekannt gemacht hat. Zu dieser Frage haben aus dem Ehrlichschen Institut die Arbeiten von Moreschi und Altmann beigetragen. Moreschi (l. c. [68]) hat die Agglutinationsverstärkung durch Antikörper analysiert und den Wirkungsmechanismus als „Kettenbindung" im Sinne der strukturchemischen Betrachtung Ehrlichs bezeichnet. In einer weiteren Arbeit von Moreschi[100]) wird gezeigt, daß Agglutination durch eine derartige Kettenbindung auch durch Wirkung des Komplements als Antigen verursacht werden kann. Altmann[101]) endlich hat thermolabile, an den Ambozeptor angreifende Hämolyse beschleunigende Substanzen auch im normalen Serum aufgefunden und so auch für diesen Fall das Ehrlichsche Gesetz bestätigt, demzufolge Analoga der Antikörper schon physiologisch vorkommen. Eine weitere Arbeit von Altmann[102]) zeigte, daß in bezug auf die Hämolyse beschleunigenden Antikörper auch die Identität von bindenden und immunisierenden Gruppen besteht; es gelang nämlich auch mit ambozeptorbeladenen Blutkörperchen Hämolyse beschleunigende Stoffe und gleichzeitig mit ihnen Präzipitine und komplementbindende Anti-

[99]) Berl. klin. Wochenschr., H. 20/21, **1906** [*326*].
[100]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **XI**, 275, **1911** [*444*].
[101]) Ebenda, **VIII**, 24, **1910** [*214*].
[102]) Ebenda, **XIII**, 219, **1912** [*215*].

körper zu erzeugen. So kann man also den Ambozeptoren neben ihrer Antikörpernatur gleichzeitig den Charakter als Antigene vindizieren.

Studien über die Komplementbindungserscheinungen bildeten den Inhalt zahlreicher aus Ehrlichs Institut hervorgegangener Arbeiten, seitdem Neißer und Sachs (l. c. [95]) die Möglichkeit der forensischen Blutdifferenzierung durch Komplementbindung erwiesen hatten.

Weitere Arbeiten der gleichen Autoren[103–105]) brachten für Theorie und Praxis der Komplementbindungsmethode gleich wichtige Beiträge. Sie zeigten die Unabhängigkeit der Komplementbindung von der Präzipitation, sie demonstrierten in Übereinstimmung mit Moreschi die Koktolabilität der bei der Komplementbindung interferierenden Serumantigene und trugen zur Kenntnis der bei der Komplementbindung bestehenden quantitativen Verhältnisse bei.

In dieser Hinsicht ist auch eine ältere Arbeit von Morgenroth und Sachs (l. c. [73]) erwähnenswert, welche die quantitativen Beziehungen zwischen Ambozeptor, Komplement und Antikomplement noch im Sinne echter Antikomplemente analysierte, deren Ergebnisse aber auch unter Berücksichtigung der komplexen Konstitution des Antikomplements zu Recht bestehen.

Die Arbeiten von Neißer und Sachs hoben auch die Vorzüge der Komplementbindungsmethode gegenüber dem Uhlenhuth-Wassermannschen Präzipitationsverfahren hervor und bestimmten die Methodik, welche die Komplementbindung zur biologischen Eiweißdifferenzierung in ausgezeichneter Weise verwertbar macht. Es folgten dann die Beiträge von Rickmann[106]), Bauer[107]), Sachs und Bauer[108]), welche die hervorragende und die Präzipitation übertreffende Spezifität der Komplementbindung bei der biologischen Eiweißdifferenzierung demonstrierten. Eine Mitteilung von Abramow (l. c. [77]) behandelt den Einfluß der Reaktion des Mediums auf die Komplementbindungsphänomene und umfaßt gleichzeitig auch die Verhältnisse bei der Wassermannschen Syphilisreaktion.

Kudicke und Sachs[109]) zeigten, daß man durch Komplementbindung mittels eines Serumantiserums rohe und gekochte Milch differenzieren kann.*)

Den Inhalt einer Arbeit von Bierbaum[110]) bildet die praktisch wichtige Benutzung der Komplementbindung zum Nachweis von Ricinussamenbestandteilen in Futtermitteln.

Die Anwendung der Komplementbindung zum Nachweis von antibakteriellen Antikörpern oder zur Bakteriendifferenzierung behandeln die Arbeiten

*) Den Einfluß des Kochens auf das physikalisch-chemische Verhalten der Milch behandelt eine Arbeit von Grosser[109a]).

[103]) Berl. klin. Wochenschr., H. 3, **1906** [*484*].
[104]) Deutsche med. Wochenschr., H. 39, **1906** [*485*].
[105]) Klin. Jahrbuch, **XIX**, 28, **1908** [*486*].
[106]) Arb. aus d. Inst. f. exper. Ther., H. 3, 63, **1907** [*514, 515*].
[107]) Ebenda, H. 3, 71, **1907** [*249*].
[108]) Ebenda, H. 3, 83, **1907** [*564*].
[109]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **XX**, 316, **1913** [*395*].
[109a]) Biochem. Zeitschr., **XLVIII**, 427, **1913** [*359*].
[110]) Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere, **XII**, 351, **1912** [*297*].

von Seiffert[111]), Altmann und Schultz[112]), Boehncke[113]), Bierbaum und Boehncke[114]).

Eine große Reihe von wissenschaftlichen Arbeiten behandeln die Wassermannsche Syphilisreaktion, deren hervorragend praktische Bedeutung als unentbehrliches Hilfsmittel für Diagnose und Therapie in den Mitteilungen von Sachs und Altmann (l. c. [53] u. [115])), Höhne[116–118]), Heller[119]), Ritz und Sachs[120]) auf Grund reicher Erfahrungen bestätigt werden konnte. Die Ausführung der Wassermannschen Reaktion zu serodiagnostischen Zwecken ist seither eine dauernde Aufgabe des von Ehrlich geleiteten Instituts für experimentelle Therapie geblieben. Sie bildet das ständige Arbeitsgebiet der serodiagnostischen Abteilung, in der die Zahl der diagnostischen Untersuchungen (11 500 im Jahre 1913) eine beträchtliche Höhe erreicht hat. Das große Material bietet dabei fortgesetzt Gelegenheit zu experimentellen Untersuchungen, und so ist auch die Lehre von der Theorie und Praxis der Wassermannschen Reaktion durch die Arbeiten der Abteilung, deren Inhalt hier nur kurz gestreift werden kann, vielfältig bereichert worden.

So berichteten Sachs und Altmann (l. c. [52]) über die Bedeutung der Seifen bei der Wassermannschen Reaktion, Sachs und Altmann (l. c. [115]), sowie Abramow (l. c. [77]) über den Einfluß der sauren oder alkalischen Reaktion auf die Serodiagnostik der Syphilis, sowie über die Tatsache, daß aktive Sera stärker, aber nicht so spezifisch reagieren, wie inaktivierte, und daß durch Erhitzen auf 60—62° die Reaktionsfähigkeit in der Regel ganz erlischt (vgl. hierzu auch Sachs[121]). Von einer heute allgemein gewürdigten Bedeutung war die Erkenntnis des Einflusses der Verdünnungsart bei alkoholischen Extrakten auf die Reaktion in der Arbeit von Sachs und Rondoni (l. c. [53], [54]), die in einer weiteren Mitteilung über die gegenseitige Beeinflussung von Lipoiden bei der Syphilisreaktion berichteten und dadurch für den Ersatz der Organextrakte durch Lipoide die Richtung wiesen. Auf Grund dieser Erfahrungen wurde von Sachs[122]) die Cholesterinierung der Organextrakte als bestes Mittel zur Bereitung wirksamer Reagenzien empfohlen. Ritz[123]) untersuchte den Einfluß des Sublimats, Guggenheimer denjenigen

[111]) Münch. med. Wochenschr., H. 3, **1909** [*580*].
[112]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **III**, 98, **1909** [*216*].
[113]) Arb. a. d. Inst. f. exper. Ther., H. 5, 15, **1913** [*313*].
[114]) Zeitschr. f. Infektionskrankh. etc. d. Haustiere, **XIV**, 231, **1913** [*300*].
[115]) Berl. klin. Wochenschr., H. 14, **1908** [*562*].
[116]) Berl. klin. Wochenschr., H. 32, **1908** [*370*].
[117]) Ebenda, H. 38, **1908** [*371*].
[118]) Berl. klin. Wochenschr., H. 19, **1909** [*372*].
[119]) I.-D. Gießen, **1908** [*368*].
[120]) Deutsche med. Wochenschr., H. 43, **1912** [*524*].
[121]) X. Kongreß d. Deutsch. Dermatol. Ges., S. 166, **1908** [*552*].
[122]) Berl. klin. Wochenschr., H. 46, **1911** [*556*].
[123]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **VII**, 170, **1910** [*516*].

der Temperatur auf die Wassermannsche Reaktion (l. c. [55]), Schloßberger[124]) berichtete über Untersuchungen, welche die quantitativen Beziehungen zum Inhalt hatten, und in einer Arbeit von Signorelli[125]) wurde über die Verstärkung der Empfindlichkeit durch Phenol berichtet, dessen Einfluß auf die Komplementbindungserscheinungen im allgemeinen sich aus Untersuchungen von Bierbaum und Boehncke (l. c. [114]) ergeben hat.

## IV.

„Von einer Spezifität der durch Immunisierung von Zellen erhaltenen Immunkörper kann nur in dem Sinne gesprochen werden, daß hierunter jedesmal die spezifischen Beziehungen zwischen den einzelnen Typen von Immunkörpern und Rezeptoren verstanden werden."

Dieses von Ehrlich und Morgenroth (l. c. [6]) in der 6. Mitteilung über Hämolysine formulierte Grundgesetz der Spezifität ist eine der wichtigsten Konsequenzen, welche sich aus der durch pluralistische Betrachtung geleiteten Experimentalanalyse ergeben haben. Es abstrahiert von der Zelle als biologische Einheit und zerlegt „den Vollbegriff der Zelle in eine große Zahl einzelner bestimmter Partialfunktionen" (Ehrlich, l. c. [8]). Das materielle Substrat dieser Partialfunktionen sind die Rezeptoren. Man begegnet dem Begriff des Rezeptors zum ersten Male in der 3. Mitteilung über Hämolysine von Ehrlich und Morgenroth (l. c. [3]), in der die von Ehrlich stets betonten engen Beziehungen zwischen Physiologie und Immunitätslehre sich dadurch dokumentieren, daß das Studium der Antikörperreaktionen in neuartiger Weise zu der Entdeckung von Tatsachen allgemein-biologischer Dignität führte.

Während vorher die Versuchsanordnung, „keineswegs durch das Wesen der Sache, sondern durch die Willkür des Experimentators begrenzt", nur die nach Resorption fremdartigen Materials erfolgende Reaktion des Organismus umfaßte, wird hier von Ehrlich das Immunisierungsproblem zum ersten Male auf arteigene Zellmaterialien ausgedehnt. Das Ergebnis war die Entdeckung der Isolysine und damit die individuelle Differenzierung der biochemischen Blutkörperchenstrukturen bei einer und derselben Tierart. Es zeigte sich nämlich — die Versuche wurden, um einen hinreichenden „ictus immunisatorius" zu erzielen, an Ziegen mit peritonealer Injektion großer, durch Wasserzusatz lackfarben gemachter Ziegenblutmengen vorgenommen —, daß das Serum der mit arteigenen, aber individuumfremden Blutkörperchen vorbehandelten Tiere, gleichartige Blutkörperchen löste, jedoch nicht die zugehörigen eigenen Blut-

[124]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **XIX**, 116, **1913** [*571*].
[125]) Ebenda, **XIX**, 293, **1913** [*586*].

körperchen. Es waren also Isolysine entstanden, aber nicht ein Autolysin. Von hier ab datiert die Scheidung in Heterolysine, Isolysine und Autolysine.

Der Bindungsversuch lieferte auch für die Isolysine den Schlüssel des Verständnisses. Er ergab den engen Parallelismus zwischen Empfindlichkeit der roten Blutkörperchen und Bindung des isolytischen Ambozeptors, also zwischen Verteilung und Wirkung. Das Experiment führte mithin zu der Konsequenz, daß die Blutkörperchen des Isolysinspenders deshalb unempfindlich gegenüber dem Isolysin sind, weil sie die zur Verankerung des Ambozeptors erforderlichen Rezeptoren nicht besitzen.

Bei der Immunisierung einer größeren Zahl von Ziegen ergab sich nun eine überraschende Mannigfaltigkeit, indem die Prüfung der einzelnen Isolysine gegenüber einer Reihe von Blutkörperchen differenter individueller Herkunft ein höchst wechselvolles Bild zeigte. Die Skala der Empfindlichkeit war durchaus nicht einheitlich, und die Isolysine waren verschieden in ihrer Abhängigkeit von dem injizierten Blut und der Individualität des Versuchstieres. Die Rezeptorkonzeption gestattete ohne weiteres, den scheinbar unentwirrbaren Erscheinungskomplex einheitlich zu ordnen. Der vielgestaltige Apparat von haptophoren Gruppen, über den die roten Blutkörperchen verfügen, ist — das war der Ausdruck der Erfahrungen — nicht innerhalb derselben Tierart konstant, sondern variiert von Individuum zu Individuum. Und die Möglichkeit der isolytischen Reaktionen auf die in den Organismus eingeführte Schar haptophorer Gruppen ist andererseits eine Funktion des Rezeptorenapparates desjenigen Individuums, in dessen Organismus die haptophoren Gruppen gelangen. Fehlen korrespondierende Rezeptoren, so bleibt die Hämolysinbildung überhaupt aus; sind sie vorhanden, so ist die Möglichkeit zur Ambozeptorbildung, und im besonderen Falle zum Auftreten isolytischer Ambozeptoren gegeben. Aber noch ein dritter Fall ist nach Ehrlich und Morgenroth denbkar. Wenn nämlich der zur Immunisierung dienende Organismus über die gleichen Gruppen verfügt, welche das eingeführte Blut besitzt, außerdem aber noch über den korrespondierenden Rezeptor, so kann der letztere, durch den immunisatorischen Reiz frei geworden, wiederum zur Antikörperbildung führen und ein Antiautolysin entstehen.

Wir finden an gleicher Stelle eine Differenzierung der Abhängigkeit der Geschehnisse davon, ob solche korrespondierenden Gruppen gleichzeitig im Organismus vorkommen, oder ob „singuläre" haptophore Gruppen vorhanden sind. Im ersteren Falle ist es nicht möglich, infolge der einsetzenden regulatorischen Neubildung die Antikörperbildung auf eine wesentliche Höhe zu bringen, im letzteren sind die Bedingungen für eine außerordentliche Steigerung der Antikörperproduktion gegeben.

Diese Überlegungen eröffneten einen ganz neuartigen Einblick in

die Mannigfaltigkeit biochemischer Struktur und biologischen Geschehens. So erklärt sich auch die schon damals beobachtete Tatsache der individuellen Differenzen in der Reaktionsfähigkeit des Organismus, indem ein und dasselbe Blut, zwei Tieren injiziert, verschiedene Isolysine hervorrief; die entsprechenden Rezeptoren sind eben nicht in jedem Individuum vorhanden. Durch die scharfe Formulierung des Unterschieds zwischen den erzeugbaren Isolysinen und den immunisatorisch nicht darzustellenden Autolysinen war in bezug auf die Pathogenese eine experimentelle Bestätigung für die in teleologischer Hinsicht von vornherein anzunehmende Tatsache gegeben, daß die Resorption des körpereigenen Zellmaterials nicht ohne weiteres zu einer dauernden Schädigung des Organismus durch reaktive Produkte führen muß. Bei einem Versagen der die Autolysinbildung verhindernden internen Regulationsvorrichtungen, des von Ehrlich sog. „Horror autotoxicus", war aber die Gefahr durchaus denkbar, und so wurde auf Grund der Isolysinstudien ganz besonders auf die Bedeutung des Versagens der internen Regulation für die Entstehung von Krankheitserscheinungen hingewiesen.

In physiologischer Hinsicht wurde aber durch die Isolysinstudien eine biochemische Differenzierung der Zelltypen verschiedener Individuen und gleichzeitig eine ungeahnte Mannigfaltigkeit und Variabilität der biochemischen Stigmata kennen gelehrt. Die Entdeckung der Isolysine bildet derart die Grundlage für alle späteren Forschungen über die durch Antikörperreaktionen nachweisbaren individuellen Blut- und Zellverschiedenheiten. Die individuelle Differenzierung ist eben nur durch den von Ehrlich und Morgenroth erkannten Umstand möglich, daß das einzelne Individuum nicht alle Partialrezeptoren besitzt, welche innerhalb der Art vorkommen. Der Nachweis der individuell charakterisierenden Rezeptoren ist wiederum nur durch das Prinzip der Isoantikörperreaktion angängig, da bei der „Hetero"wirkung die Masse der allgemein für die Art spezifischen Antikörper so überwiegt, daß die individuelle Zeichnung nicht mehr zum Ausdruck gelangt.

Schon durch das erkenntnisreiche Studium der Isolysine war auf experimenteller Basis die plurimistische Auffassung der Immunitätsreaktionen fixiert, deren weitere Präzisierung in den folgenden Arbeiten und insbesondere in der 6. Mitteilung von Ehrlich und Morgenroth erfolgte. Die neue Basis, welche durch den die Betrachtung im Sinne einer strengen anatomischen und artspezifischen Differenzierung verdrängenden Begriff des Rezeptors gewonnen war, der rationelle Ersatz des sinnfällig wahrnehmbaren Unterscheidungsmerkmals durch die biochemische Struktur erwies sich nicht nur für den speziellen Fall der Isolysine als maßgeblich, entsprach vielmehr ganz allgemein den Tatsachen,

welche die Immunitätsforschung kennen lehrte. Bereits bei den Isolysinstudien hatten Ehrlich und Morgenroth erkannt, daß Ziegenblutisolysine auch auf Hammelblut und andererseits die durch Hammelblutimmunisierung von Ziegen gewonnenen Immunsera auch isolytisch wirken können. Es folgte dann die wichtige Entdeckung (l. c. [6]), daß bei der Immunisierung von Kaninchen mit Rinderblut auch Ziegenbluthämolysine entstehen und umgekehrt. Obwohl dabei auch die heterologen Reaktionen von erheblicher Stärke sind, so war doch mit großer Evidenz zu zeigen, daß es sich bei der Immunisierung mit zwei so verwandten Blutarten keineswegs um eine Identität der entstehenden Immunsera handelt. Einmal ergab schon die quantitative Methodik einen wertvollen Aufschluß. Es zeigte sich nämlich, daß einerseits bei der homologen Wirkung die Ambozeptoreinheit in der Regel geringer war, als bei der heterologen, daß aber andererseits die Relation des Ambozeptortiters für beide Blutarten bei der Prüfung verschiedener Immunsera regellos in weiten Grenzen schwankte. Ähnlich hatten Ehrlich und Morgenroth (l. c. [4]) schon früher aus dem verschiedenen Verhalten von Immunseris bei der Aktivierung durch mehrere Komplemente auf eine Vielheit von Ambozeptoren geschlossen. Und das pluralistische Prinzip fand in der Differenzierung der cytophilen Ambozeptorgruppen durch den Bindungsversuch die auf Grund der Betrachtungsweise Ehrlichs zu erwartende Bestätigung.

Die Methode der elektiven Absorption, die Ehrlich und Morgenroth (l. c. [4], [6]) hiermit in die Immunitätsforschung einführten, stellt das wichtigste Mittel der Antikörperdifferenzierung dar. Es ist das Experimentum crucis für die Vielheit der Rezeptoren und ihrer Antikörper. Die homologe zur Herstellung des Antiserums herangezogene Blutart bindet den gesamten Ambozeptorvorrat, die heterologe Blutart nur eine Fraktion. Derart wird durch die Verankerung an die heterologe Blutart gleichzeitig eine höhere Spezifität des Antiserums erzielt, indem die übergreifenden Antikörper eliminiert werden, die nur die homologen Zellen treffenden dagegen unbeeinflußt bleiben. Für Theorie und Praxis war hiermit eine Erkenntnis gewonnen, welche immer von neuem Bestätigung fand und scheinbar komplizierte Phänomene ohne weiteres zu durchdringen vermochte. Es sei daran erinnert, wie die von Ehrlich und Morgenroth zuerst zwischen Rinder- und Ziegenblut festgestellte Rezeptorengemeinschaft später auch in zahlreichen anderen Fällen wieder aufgefunden werden konnte. Sie gilt für Rinder-, Ziegen- und Hammelblut und ebenso, wie in der Arbeit von Marshall (l. c. [31]) gezeigt wurde, auch für Menschen- und Affenblut. Überall erscheinen die gleichen Gesetzmäßigkeiten, überall entsprechen sich Bindungs- und Immunisierungsvermögen. Das Prinzip

der Rezeptorengemeinschaft bildet seither eine der wichtigsten Grundlagen auf dem Gesamtgebiet der Serodiagnostik. Es ist nur eine andere Ausdrucksweise, wenn wir von Verwandtschaftsreaktionen, vom Übergreifen der Antikörperwirkungen sprechen, und es ist nur eine spezielle Anwendungsform des Ehrlich zu dankenden Prinzips der elektiven Absorption, wenn wir, wie z. B. im Castellanischen Versuch bei der Bakterien-Agglutination, entscheiden, ob heterolog wirkende Antikörper nur auf gemeinschaftliche Rezeptoren wirken (Mitagglutination), oder ob sie den Ausdruck einer Mischinfektion darstellen. Das das Gesamtgebiet der Antikörperreaktionen harmonisch verbindende Gesetz ist das Resultat der Anwendung der Rezeptorkonzeption auf das Spezifitätsproblem, das die Abweichungen von einer nur auf die sinnfällig wahrnehmbaren Unterscheidungsmerkmale bezogenen Spezifität als scheinbare zu verstehen gelehrt hat.

In unmittelbarer Konsequenz ergab sich auch die differente Zusammensetzung der von verschiedenen Tierarten durch gleichsinnige Immunisierung gewonnenen Antisera, nicht nur in bezug auf die Aktivierbarkeit, sondern auch in bezug auf die Konstitution der cytophilen Gruppen. Zahlreiche Versuchsreihen von Ehrlich und Morgenroth (l. c. [6]) erhärteten das, und es ergab sich hieraus als wichtiges Prinzip, daß zur Erzeugung möglichst zahlreicher Antikörpertypen die Immunisierung verschiedener Tierarten zweckmäßig erscheint. Andererseits schuf die Erkenntnis der Variabilität des Rezeptorenapparates die rationelle Grundlage für die Verwendung zahlreicher Stämme als Antigene bei der Gewinnung antibakterieller Immunsera.

Bei der erwiesenen Unabhängigkeit der Rezeptorenverteilung von der Artdifferenzierung konnte eine Rezeptorgemeinschaft zwischen verschiedenen Organen und Geweben bei derselben Spezies um so weniger überraschen. Die Arbeiten v. Dungerns[126]) haben für diese prinzipiell sich von den erörterten Phänomenen nicht unterscheidende Verhältnisse durch das Studium der durch Injektion von Flimmerepithelien und durch Milch hervorgerufenen Immunitätsreaktionen interessante Beiträge geliefert. Es entspricht im Sinne Ehrlichs nur der Auffassung der Rezeptoren als dem Stoffwechsel unterworfener Ernährungsorgane, daß sich Zellrezeptoren auch in den Körperflüssigkeiten nachweisen lassen, wie das in Übereinstimmung mit v. Dungern, Tschistovitsch, Müller auch die von Morgenroth (l. c. [27]) erwiesene Bildung von hämolytischen Ambozeptoren nach Seruminjektionen zeigt.

Wenn Ehrlich und Morgenroth schon bei ihren ersten Studien

[126]) Münch. med. Wochenschr., H. 28, **1900** [*340*].

über die komplizierte Zusammensetzung des Rezeptorenapparates und über Rezeptorengemeinschaft der Überzeugung Ausdruck gaben, daß die Zukunft für die Analyse und die Kenntnis der Verteilung der Rezeptoren noch ein ausgedehntes Material bringen würde, so hat die spätere Forschung diese präzis formulierten Konsequenzen wohl durchdachter Theorie nicht getäuscht. Erinnert sei in diesem Sinne an die Untersuchungen der letzten Jahre, in denen wir auf Grund der Arbeiten Forsmans mit Rezeptorengemeinschaften zwischen Blutkörperchen und Organen entfernt stehender Tierarten bekannt wurden. In der Arbeit von Orudschiew (l. c. [23]) wurden die hier vorliegenden Verhältnisse eingehend analysiert, und sie erscheinen im Lichte der Rezeptorenlehre nur als eine neue Form auf dem durch die Untersuchungen von Ehrlich und Morgenroth gelegten Fundament. Im Zusammenhange damit sei auch eine Arbeit von Sachs und Nathan[127]) über Immunisierungsversuche mit gekochtem Hammelblut genannt.

Wenn wir zum Schluß die Bedeutung des Rezeptorenstudiums für die Physiologie und Biochemie betrachten, so galten die Immunitätsarbeiten Ehrlichs an erster Stelle einem Organ, dem Blut und seinen Bestandteilen. Hier hat nun Ehrlich die sich ergebenden Konsequenzen mit aller Prägnanz gezogen (vgl. insbesondere „Schlußbetrachtungen", l. c. [9]). Die Tatsache, daß die roten Blutkörperchen mit einer so außerordentlich großen Zahl von verschiedenartigen Rezeptoren versehen sind, erschien ihm als ein Widerspruch zu den herrschenden Anschauungen über die Funktion der roten Blutkörperchen. Er vindiziert daher den roten Blutzellen neben dem einfachen Sauerstoffaustausch „noch andere, bis dahin übersehene Funktionen" und erblickt in ihnen „Speicherungszentren", welche die aus der Nahrung und dem inneren Stoffwechsel herrührenden Substanzen provisorisch aufnehmen, um sie im Bedarfsfalle wieder abzugeben. Als Regler des Austausches erscheint auch hier wieder die Skala der Avidität. Man begegnet hier der gleichen Grundidee, welche bereits in der Monographie „Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus" (1885) in wesentlichen Zügen hervortritt.

Bei der biochemischen Analyse der Zellstrukturen unterscheidet Ehrlich bereits zwischen artspezifischem, organspezifischem Gepräge und individueller Variation. Die roten Blutkörperchen hielt er „wegen ihrer relativ einfachen Struktur und der Leichtigkeit ihrer Handhabung zunächst mehr als andere Zellelemente" für die Zwecke dieses Studiums für geeignet. So sind nach Ehrlich gewisse Rezeptorentypen der Blutzelle „der Mehrzahl, wenn nicht der Gesamtheit der Wirbeltierarten gemeinsam". Als

[127]) Zeitschr. f. Immunitätsf. **XIX**, 235, **1913** [*566*].

Beweis für diese Übereinstimmung der Organstruktur gilt ihm, daß die Rezeptoren für eine Reihe von Toxinen (Ricin, Abrin, Ichthyotoxin u. a.) unter den verschiedenartigsten Blutkörperchen sehr verbreitet sind. Daneben gibt es, wie schon erörtert, auf einen mehr oder weniger großen Kreis von Tierarten beschränkte Spezialrezeptoren, innerhalb ein und derselben Tierart wiederum individuell charakterisierende Typen und endlich für die Tierart spezifische Rezeptoren, wie dies aus dem Grundversuch der immunisatorischen Hämolysinbildung ohne weiteres hervorgeht. Daß auch die einzelnen Organe desselben Individuums zum Teil gemeinsame, zum Teil sie charakterisierende Rezeptoren und damit Unterschiede ihrer biochemischen Struktur besitzen müssen, ist eine sich aus der Rezeptorenlehre ohne weiteres ergebende Konsequenz, und die Arbeit v. Dungerns (l. c. [126]) über die Rezeptorenqualität der Flimmerepithelzellen, der Milch und des Blutes erbringt hierfür bereits experimentelle Belege.

Aber ebenso wie Ehrlich durch das Studium der Rezeptoren und Antikörper die Lehre von der Differenzierung biochemischer Strukturen schuf und aus ihnen auf Variationen der Stoffwechselvorgänge, als deren Indikator ihm ja die Rezeptoren gelten, schloß, ebenso war er sich auch bewußt — und das Auffinden gleichartiger, in der Tierreihe weit verbreiteter Rezeptoren gab ihm hierfür den experimentellen Beleg —, daß Übereinstimmungen des biochemischen Charakters unabhängig von der artspezifischen Differenzierung vorhanden sein müssen. So heißt es in den „Schlußbetrachtungen" zur „Anämie" (1901), in denen Ehrlich die hier erörterten Anschauungen in besonderer Prägnanz entwickelte:

„Daß gewisse Assimilationsvorgänge genau in der gleichen Weise bei Mensch und Frosch verlaufen, ist ebensowenig zu bezweifeln, als die Tatsache anderer, eben nur für eine Tierart spezifischer Vorgänge."

Ehrlich weist dann noch auf die große Bedeutung der Variabilität des Rezeptorenapparates hin:

„Offenbar spiegelt dieses Kommen und Gehen besonderer Rezeptoren interne Vorgänge des Stoffwechsels wieder, die von einer großen Reihe äußerer oder innerer Faktoren abhängig sein können."

Die Isolysinarbeiten Ehrlichs und Morgenroths hatten hierfür bereits experimentelle Belege ergeben. Schon in den erwähnten Schlußbetrachtungen beschäftigte sich Ehrlich auch eingehend mit dem Problem des Rezeptorenschwundes. Damals war zwar nur ein einzelnes Beispiel für einen durch die Willkür des Experimentes erzeugten Rezeptorenschwund bekannt, die von Kossel gefundene Tatsache, daß die Blutkörperchen im Verlauf der Aalserumimmunisierung eine Resistenz gegen das Hämo-

lysin des Aalblutes erwerben können. Heute ist es von besonderem Interesse, die damaligen Ausführungen Ehrlichs zu lesen, in denen sich bereits die Grundlagen jener fruchtbaren Vorstellungen finden, mit denen er später bei seinen chemotherapeutischen Studien die Probleme der Arzneifestigkeit und der Serumfestigkeit aufzuklären und zu durchdringen vermochte. Bei der Analyse dieser Erscheinungen zeigte sich in gesetzmäßiger Weise die Möglichkeit des künstlich erzeugten Rezeptorenschwundes und die Bildung neuer Rezeptorentypen. Das Moment des Protoplasmahungers, unter dessen Einfluß Ehrlich später neue potentielle Anlagen des Trypanosomens zur Entfaltung kommen sieht, erscheint schon in den „Schlußbetrachtungen" als einer der wichtigsten „assimilatorischen Reize", der zu einer erheblichen Steigerung der Rezeptorenavidität führen muß.

---

Die Übersicht, welche hier über die von Ehrlich geleistete und geleitete Gesamtarbeit auf dem Gebiete der cytotoxischen Serumwirkungen gegeben ist, kann natürlich nur in wesentlichen Zügen ein Bild seines an Ergebnissen und Anregungen reichen Wirkens entwerfen. So sind insbesondere bei der Schilderung der Hemmungserscheinungen, welche das Zustandekommen des cytotoxischen Synergismus verhindern, zahlreiche Einzelheiten seiner scharfsinnigen Interpretation unberücksichtigt geblieben. Wenn man die Originalarbeiten überblickt, so imponiert die Art, in der die Probleme auf allgemein-biologischer Grundlage entwickelt werden, ebensosehr wie die experimentelle Analyse und die Größe des tatsächlichen Materials, das wir ihr verdanken. Dabei erscheint die Konzeption überall beherrscht von der Einheitlichkeit des Gedankens, mit der die Ordnung der mannigfaltigen und oft recht komplizierten Erscheinungsformen geschieht. Denn im wesentlichen handelt es sich bei der Analyse der Immunitätserscheinungen durch Ehrlich stets um das Problem der Verteilung auf Grund stereochemischer Betrachtung. Es entspricht nur dem „allgemein wahrnehmbaren komplizierten Charakter des Naturgeschehens und der Lebensvorgänge", wenn in durchaus logischem Zusammenhange die pluralistische Betrachtung hinzukommt, welche dem variierenden Ausdruck distributiver Wirkung durch die Mannigfaltigkeit sterischer Konfiguration und ihrer Träger gerecht wird. Im Mittelpunkt aber steht das „Verankerungsaxiom", das der Tätigkeit Ehrlichs auf den verschiedenartigen Gebieten, denen seine Forscherkraft gewidmet ist, einheitlichen Charakter verleiht.

So bedeutet die Rezeptorkonzeption — in ihren Grundlagen schon im „Sauerstoffbedürfnis" erfaßt — nicht nur für die Analyse der hier behandelten Antikörperreaktionen, aus deren Studium sie in präziser

Formulierung erstand, den Schlüssel des Verständnisses und den zuverlässigen Führer. Sie hat Ehrlich gleichzeitig von der Immunität zur Chemotherapie geleitet und ist unter Ausdehnung auf den Begriff des „Chemozeptors" für die Ergründung pharmakodynamischer Wirkungen im allgemeinen von so ausschlaggebender Bedeutung geworden. In den chemotherapeutischen Studien Ehrlichs stehen diejenigen Rezeptoren im Vordergrund, welche nicht als Antikörper in das Blut überzutreten vermögen. In der früheren Periode seines Wirkens erstreckt sich das Problem wesentlich auf die Rezeptoren im Stadium der Antikörper, deren Erzeugung Ehrlich die Möglichkeit bot, „einzelne Räder des komplizierten Organismus herauszunehmen und dieselben genau zu studieren". Übereinstimmend aber erscheint als alle Richtungen des Aufstiegs beherrschendes Ziel das Problem des Zelllebens, das Eindringen in die „Partialfunktionen der Zelle".

12.

# Die Serumprüfung und ihre theoretischen Grundlagen.

Von

**K. E. Boehncke,**

Frankfurt a. M.

„Es bedarf keiner Erörterung, daß es für die ganze Diphtherieheilserumfrage sowohl vom praktisch-therapeutischen als vom rein wissenschaftlichen Standpunkt aus notwendig ist, Sera von genau bestimmtem Werte anzuwenden." Dieser Satz, mit dem Ehrlich[1]) im Jahre 1897 seine klassische Abhandlung über „die Wertbemessung des Diphtherieheilserums und deren theoretische Grundlagen" einleitete, hat sich in der Folge, wie die Entwicklung der gesamten Serumtherapie zeigt, tausendfältig bewahrheitet, zumal diese bereits im ersten Anfangsstadium zufolge der sehr unzuverlässigen Wirkung stark abgeschwächter, im Verkehr befindlicher Sera besonders im Ausland arg in Mißkredit geraten war. Zur Erklärung der Möglichkeit der Existenz solcher geprüfter Sera mit ungenügendem Antitoxingehalt vermochte Ehrlich (abgesehen von der Erkenntnis der Labilität des Toxins) auch den wichtigen Befund zu erheben, daß beide Komponenten des Mischungsversuches (Toxin und Antitoxin) gelegentlich durchaus harmonisch absinken und so ein Konstantbleiben vortäuschen können. Wenn wir heute genaue Wertbestimmungen, nicht nur des Diphtherieheilserums, auszuführen vermögen, so verdanken wir gerade auf diesem Gebiete Ehrlich die ersten präzisen Fragestellungen und fundamentalen Aufschlüsse. Seine ingeniöse Arbeitsmethodik, die mit mathematischer Genauigkeit und chemischer Exaktheit selbst die diffizilsten Einzelheiten bestimmte, ist

[1]) Klin. Jahrb., **VI**, 299, **1897** [*60*].

grundlegend und maßgebend geblieben. Bestechend durch ihre Einfachheit ist die jetzige Wertbestimmungsmethode des Diphtherieserums aber erst das Resultat langwieriger und mühsamer Versuche, die in ihren ersten Resultaten zusammenfassend von Dönitz[2]) geschildert sind. Um ihre Entstehung begreifen und ihren Wert richtig würdigen zu können, wird es sich empfehlen chronologisch die Entwicklung der quantitativen Studien des Forschers auf dem Spezialgebiet der **Wertbemessung der antitoxischen Sera** zu verfolgen.

Ursprünglich ging man bei der Wertbemessung des Diphtherieserums in der Weise vor, daß man die Versuchstiere mit der sicher tödlichen Dosis einer virulenten Kultur infizierte und ihnen dann fallende Mengen des Heilserums injizierte, um derart die Dosis zu ermitteln, welche genügte, um das Tier vor dem Tode zu retten. Da jedoch die Infektion lebender Kultur, wie sich bald herausstellte, sehr schwankende Resultate gab, so mußte man diese Methode verlassen. Auch die Ermittlung des „Immunisierungswertes" gegen die nachfolgende Infektion erwies sich als nicht sicher. Da bedeutete der Ersatz der Infektion mit lebender Kultur durch die Intoxikation mit dem sezernierten Toxin der Bazillen, zumal im Interesse quantitativer Bestimmungen, die Ehrlich[3]) bereits bei seinen Untersuchungen über die Rizinimmunität maßgebend waren, einen beträchtlichen Fortschritt.

Die Grundlage für die jetzige Prüfungstechnik des Diphtherieserums wurde gelegt durch die von Ehrlich[4]) in Gemeinschaft mit Kossel und v. Wassermann ausgearbeitete Gift-Serummischungsmethode in vitro. Der Vorzug der Methode, bei der mit der zehnfach tödlichen Giftdosis gearbeitet wurde, in der Vorstellung, daß das Toxin und das Antitoxin eine chemische Verbindung eingehen, gegenüber der früheren bestand darin, daß Gift und Serum im Gemisch injiziert wurden, wodurch eine stets gleichmäßige Einwirkung beider Körper aufeinander gewährleistet wurde. Die Maßeinheit bei dieser Methode war also bezogen auf das Gift; zugrunde gelegt war das v. Behringsche Normalgift, d. h. eine Giftlösung, die in 1 ccm 100 tödliche Dosen enthielt. Die einfach letale oder absolut tödliche Dosis nannte Ehrlich[5]) die Menge eines flüssigen oder festen Giftes, die gerade hinreichte, um ein Meerschweinchen von 250 g Gewicht im Laufe von 4—5 Tagen mit Sicherheit zu töten. Zur Menge von 10 absolut tödlichen Dosen wurden nun im Reagenzglas fallende Quantitäten des zu prüfenden Serums zugesetzt. Sämtliche Gemische wurden dann durch Zusatz von Kochsalzlösung auf 4 ccm aufgefüllt und Meerschweinchen von 250 g subkutan

[2]) Klin. Jahrb., **VII**, 359, **1899** [*337*].
[3]) Deutsche med. Wochenschr., H. 32, **1891** [*49*].
[4]) Deutsche med. Wochenschr., H. 16, **1894** [*185*].
[5]) Zeitschr. f. Hyg., **XVIII**, 239, **1894** [*212*].

injiziert. Wenn nun z. B. die Testgiftdosis durch $^1/_{10}$ ccm Serum neutralisiert wurde, so enthielt das Serum in 1 ccm genau eine Immunitätseinheit: man hatte ein einfaches oder Normalserum in der aus dem Begriff des ursprünglichen v. Behringschen „Normalheilserums" von ihm und Ehrlich[6]) weiterentwickelten Form, wonach eben als Immunitäts- oder Antitoxineinheit die in 1 ccm des Normalheilserums enthaltene eine Immunisierungseinheit bezeichnet wurde. Genügte beispielsweise zur Neutralisierung bereits 0,001 ccm, so war das Serum 100fach, d. h. es enthielt in 1 ccm 100 Immunitätseinheiten. Die Neutralisation wurde als genügend angesehen, wenn das Gift-Serumgemisch nur eine unbedeutende Reaktion hervorrief, die bis zum 4. Tage rückgängig geworden war. Diese Methode fand mit Recht, in vielen Laboratorien Anwendung, denn wenn sie auch nicht vollkommen war, so ließen sich mit ihr bei sorgfältiger Arbeit und genügender Erfahrung doch weit bessere Resultate erreichen, als mit anderen, z. B. der damals in Frankreich gebräuchlichen, wobei das Serum 1. auf seine Schutzkraft und 2. auf seine Heilkraft gegen lebende Kultur geprüft wurde. Madsen hatte die Ehrlichsche und die französische Methode in vergleichenden Versuchen geprüft. Er kam zum Schluß, daß unter beiden Methoden der Ehrlichschen unbedingt der Vorzug gebühre, da sie noch Differenzen von 10 bis 5% feststellte, da sie schneller (wahrscheinliches Resultat am 2., sicheres am 4. Tage), billiger (Meerschweinchen von 250 g anstatt wie in Frankreich von 500 g) und bequemer wäre, weil die Einspritzung in einem Akte, statt wie bei dem von Roux empfohlenen Verfahren in 2 Akten unternommen würde (l. c. [1]). Trotz der geschilderten Überlegenheit, und so genaue Resultate die Ehrlichsche Methode in geübten Händen auch zeitigte, war doch bei ihr durch die Verwendung der labilen Gifteinheit eine Fehlerquelle gegeben, so daß vor allem Ehrlich selbst, damals Direktor des neubegründeten Instituts für Serumprüfung und Serumforschung in Steglitz, es als notwendige Aufgaben seines Instituts bezeichnete (l. c. [1]), „eine neue, genauer funktionierende Bestimmungsmethode des Serums auszuarbeiten und daneben die verwickelten Beziehungen, die bei der Neutralisation von Gift und Antitoxin bestehen", zu erforschen, beides Aufgaben, denen er sich selbst unterzog, und deren Ergebnisse niedergelegt sind in der bereits eingangs erwähnten Monographie „Die Wertbemessung des Diphtherieheilserums usw" (l. c. [1]) und in der Abhandlung „Über die Konstitution des Diphtheriegiftes"[7]). Wir wollen uns im folgenden zunächst, jedoch nur soweit es für das Verständnis der speziell prüfungstechnischen Verhältnisse notwendig ist, mit den Ergebnissen seiner Toxinanalysen beschäf-

[6]) Hygien. Rundschau, H 24, **1894** [*58*].

[7]) Deutsche med. Wochenschr., H. 38 **1898** [*62*].

tigen, weil auf den dabei resultierenden Lehren die Theorie der definitiven, von Ehrlich geschaffenen Wertbemessungsmethode des Diphtherieserums sich aufbaut und somit für die später zu schildernde Methodik und praktische Ausführung des Verfahrens das Verständnis ohne weiteres gegeben ist.

Ehrlichs Untersuchungen erstreckten sich einmal auf frische Gifte, dann aber hauptsächlich auf gelagerte Gifte, um zu eruieren, welchen Einfluß die Art der Konservierung und ihr Alter auf ihre Eignung zu Prüfungszwecken ausübten. Zunächst wurde die absolute Toxizität, d. i. die bereits oben erwähnte einfach letale Dosis bei jedem Toxin in diffizilster Weise bestimmt. Betrug sie gerade 0,01 ccm, so lautete die Giftformel $DTN^1M^{250}$, d. h. Diphtherietoxin normal von einfacher Stärke mit Meerschweinchentod am 4. bis 5. Tag. Weiterhin wurde die Neutralisation von Gift und Serum untersucht und zwar in der Weise, daß als Serumdosis stets eine I.E. Verwendung fand. Bei der Einstellung eines frischen Toxins auf das Antitoxin entsprach nun jeder letalen Dosis die gleiche Menge Antitoxin. Bei der xfachen Giftmenge zeigte sich zur Neutralisation auch die xfache Menge Antitoxin notwendig, so daß die Einwirkung von Gift und Antitoxin sich nach Verhältnissen einer reinen Äquivalenz, folgend dem Gesetz der konstanten Proportionen, abspielen müßte: „ein Molekül Gift bindet eine ganz bestimmte unveränderliche Menge Antikörper" (l. c. [1], S.-A.,S. 14).

Bei der Analyse gelagerter Gifte zeigte sich nun die Bindungskraft des Toxins gegenüber dem Antitoxin unverändert, die Giftwirkung dagegen verringert, d. h. zur Neutralisierung von x ccm Lagergift war dieselbe Antitoxinmenge nötig, wie zu x ccm frischen Giftes, trotzdem sich die Zahl der tödlichen Dosen im ersteren erheblich verringert zeigte. Es mußten sich also im Lagergift Körper gebildet haben, die zwar das gleiche spezifische Bindungsvermögen hatten wie ihre Homologa im frischen Toxin, bei denen aber die Toxizität verändert oder in Verlust geraten sein mußte, da diese Körper eine toxische Wirkung nicht auslösten. Die Existenz derartiger Giftmodifikationen vermochte nun Ehrlich durch Einführung zweier Schwellenwerte tatsächlich zu errechnen:

„Untersucht man ein beliebiges Gift vermittels einer größeren Reihe von Tieren, indem man der Immunisierungseinheit steigende Dosen von Gift zufügt, so gelingt es fast stets zwei Grenzwerte (L = limes) zu ermitteln, die für die Charakterisierung des Giftes von der größten Bedeutung sind. Der eine Grenzwert ($L_0$) stellt die Giftdose dar, die von dem Serum so gut wie vollkommen neutralisiert wird, während der andere Grenzwert ($L_+$) die Menge angibt, bei der trotz des Antikörpers ein solcher Giftüberschuß manifest wird, daß der Tod des Versuchstieres binnen 4 Tagen eintritt. Dieser Giftüberschuß entspricht der einfach tödlichen Dosis, wie sie oben definiert

wurde. Drückt man die Grenzwerte $L_0$ und $L+$ nicht in absoluten Mengen, sondern durch die in ihnen enthaltenen Gifteinheiten aus, so ergibt sich unter der Voraussetzung, daß das Gift einen einheitlichen chemischen Körper darstelle, ohne weiteres, daß $D = L_+ - L_0$ gleich der einfach tödlichen Dosis sein muß" (l. c. [1], S.-A., S. 10).

In Wirklichkeit war, wie die Erfahrung bald lehrte, $L_+ - L_0 > 1$ Dosis letalis, meist sogar beträchtlich größer; es zeigte sich also durch das indifferente $L_0$-Gemisch Toxin gewissermaßen verschluckt. Dieses Phänomen erklärte nun Ehrlich durch die Annahme von sogenannten Toxoiden, d. h. ungiftigen, aber antitoxinbindenden Giftmodifikationen im Rohgift. Zum Verständnis dieser Vorgänge müssen wir hier einen kurzen Halt machen und die geistreichen Hypothesen des Forschers über den Mechanismus der spezifischen Giftbindung und Giftwirkung wenigstens streifen.

Durch langjährige ausgedehnte experimentelle Tätigkeit war Ehrlich die Auffassung unverrückbar geworden, daß die Beziehung zwischen spezifischem Toxin und Antitoxin eine rein chemische sei, daß Toxin und Antitoxin ohne Intervention des Tierkörpers, wie dies von anderer Seite propagiert war, nach stöchiometrischen Gesetzen zu einer indifferenten Verbindung zusammentreten, und daß dem Tierkörper selbst zunächst nur die Rolle eines Indikators auf freies Toxin zukomme. Unumstößlich auch für die fachwissenschaftliche Mitwelt mußte diese Auffassung werden durch den beweisenden Reagenzglasversuch, da hierbei die komplizierende Mitwirkung des lebenden Körpers ja außer Frage kam, indem Ehrlich[8]) nachwies, daß die spezifische — agglutinierende — Rizinwirkung auf die roten Blutkörperchen durch sein spezifisches Antitoxin aufgehoben wurde und zwar nach Maßgabe von Äquivalenzverhältnissen, die in vitro dieselben waren wie im Tierkörper. Versuche anderer Autoren mit weiteren Toxinen und deren spezifischen Antitoxinen, besonders aber Morgenroths[9]) Versuche mit dem Labferment und dessen spezifischen Antikörper, wobei die lebenden Blutzellen durch ein totes Reagens, das Kasein der Milch, ersetzt waren, zeigten dieselben Gesetzmäßigkeiten und mußten auch dem skeptischsten Gegner die Richtigkeit der Ehrlichschen Auffassung von der rein chemischen Natur der Antitoxinwirkung demonstrieren. Bei dieser Auffassung der Reaktion zwischen Toxin und Antitoxin ist auch die große Rolle erklärlich, welche dabei Zeit und Temperatur, ferner die Konzentration der Lösungen, der Salzgehalt der Medien und noch manches andere, besonders die Verwendung von geeigneter Tierart als Indikator spielen. Nach Befunden von Mor-

[8]) Fortschr. der Medizin, **XV**, 41, **1897** [*61*].
[9]) Centralbl. f. Bakt., **XXVI**, 349, **1899** [*445*].

genroth[10]), sowie Otto und Sachs[11]) ist es z. B. sehr wahrscheinlich, daß man bei der Vereinigung von Toxin und Antitoxin auch mit katalytischen Einflüssen in den Subkutangeweben bzw. im Serum rechnen muß. Bei dem Mangel rein dargestellter Antitoxine und Toxine konnten diese nun nicht strukturchemisch zergliedert werden, sondern mußten rein wirkungsphysiologisch erschlossen werden. So durfte aus der Fundamentaltatsache der chemischen Vereinigung des Toxins mit dem spezifischen Antitoxin einerseits und aus der Eigentümlichkeit der physiologischen Wirkung der Toxine andererseits für das hochkomplizierte Toxinmolekül zunächst die Existenz von zwei Atomgruppen als für die Charakteristik desselben ausreichend angenommen werden. Die eine dieser Atomgruppen, die einer bestimmten Gruppe des spezifischen Antitoxins angepaßt sein und bei der chemischen Vereinigung in dieselbe eingreifen sollte, bezeichnete Ehrlich (l. c. [1], S.-A., S. 17) als die haptophore Gruppe, während die zweite Gruppe, deren Vorhandensein er den spezifischen Giftcharakter des Toxins vindizierte, als toxophore Gruppe benannt wurde. Diese Vorstellung über den chemischen Bau der Toxine gab nun aber den Schlüssel für das Verständnis der oben erwähnten Giftmodifikationen mit verlorenem bzw. wesentlich verändertem Giftcharakter, aber erhaltener Fähigkeit, spezifisches Antitoxin chemisch zu binden, eben der sog. Toxoide.

Der Nachweis der Toxoide und verschieden avider Giftkomponenten erklärt nun, daß nach Ehrlichs Erfahrungen $L_+ - L_0 = D$ nicht, wie es theoretisch hätte sein müssen, als 1 Dosis letalis, sondern größer erschien und zwar durchschnittlich um das vielfache der absolut tödlichen Dosis.

Wenn man mit Ehrlich die Toxoide je nach ihrer Abstammung von verschieden aviden Toxinen als Protoxoide, Syntoxoide und Epitoxoide bezeichnet, so ergibt eine einfache rechnerische Überlegung, daß weder die Pro- noch die Syntoxoide erhöhend auf den D-Wert wirken könnten. Ganz anders die Epitoxoide, welche Ehrlich später als Toxone bezeichnete. Enthielt beispielsweise die zu analysierende Giftbouillon nur Toxin und Epitoxoid, so mußte das dem indifferenten $L_0$-Gemisch ferner zugesetzte Toxin zunächst anscheinend verschwinden, und es konnte die erste Giftdosis erst dann überschüssig werden, wenn alles durch Antitoxin gebundene Epitoxoid in Freiheit gesetzt war, indem es eben zufolge seiner größeren Affinität zum Antitoxin von dem bisher vom Epitoxoid gefesselten Antitoxin mit Beschlag belegt wurde.

Weitere eingehende und recht mühevolle Untersuchungen zahlreicher Diphtheriegifte wurden vorgenommen nach der Methode der partiellen

[10]) Zeitschr. f. Hyg., **XLVIII**, 177, **1904** [*455*].

[11]) Zeitschr. f. exp. Pathol. und Therapie, **III**, 19, **1906** [*502*].

Sättigung*), deren einfaches Prinzip darin besteht, daß mit einer konstanten Giftmenge verschiedene Mengen Antitoxin gemischt und die Toxizität der einzelnen Gemische, resp. die durch den jeweiligen Zusatz von Antitoxin bedingte Toxizitätsverminderung bestimmt werden. Es wurde dadurch eine genauere Analyse der Toxine und ihres (dichotomischen oder trichotomischen) Zerfalls bei der Abschwächung der Gifte ermöglicht. Ihren anschaulichen Ausdruck fand sie in einer graphischen Darstellung der gewonnenen Zahlen, die Ehrlich als Giftspektrum (l. c. [7]) bezeichnete, wobei auf der Abszissenachse die Mengen des zugeführten Antitoxins registriert werden, während als Ordinate die fehlende, bereits neutralisierte Toxinmenge fungiert. Dieses weiter eindringende Studium führte auch zu der Erkenntnis, daß die zuerst als Epitoxoid bezeichnete Giftmodifikation ein primäres Sekretionsprodukt des Diphtheriebazillus ist. Sie wurde deshalb den Toxinen und deren Derivaten, den Toxoiden, von Ehrlich als besondere Klasse unter dem Namen „Toxon" gegenübergestellt (l. c. [7]). Auch ergab sich, was aber für ihre Auffassung irrelevant war, daß die Toxone nicht völlig ungiftig sind, sondern nur abgeschwächte und qualitativ veränderte Giftwirkungen zeigen, indem sie nach einer sehr langen Inkubationszeit Lähmungen erzeugen (vgl. auch [12]). Arrhenius und Madsen haben entgegen dieser Annahme einer komplexen Konstitution des Diphtheriegiftes die Anschauung vertreten, daß die Toxine in frischem Zustande einheitliche Substanzen sind, die sich mit dem Antitoxin nach dem Typus der Borsäure-Ammoniak-Neutralisation vereinigen. So wenig wahrscheinlich nach allem von Anbeginn diese Hypothese war, so wurde ihr vollends der Boden entzogen durch Feststellungen von v. Dungern[13]) bei seiner eingehenden quantitativen Analyse eines von Danysz beobachteten Phänomens, das für die Auffassung von Toxin und Antitoxin von besonderer Bedeutung sein mußte. Es erschienen nämlich gleiche Toxin-Antitoxingemische verschieden wirksam, je nachdem die Giftmenge auf einmal oder in zeitlich getrennten Absätzen dem antitoxischen Serum zugesetzt war. In letzterem Falle übte das Serum eine unter geeigneten Bedingungen erheblich geringere Schutzwirkung aus, und diese Differenz zeigte auch nach relativ langer Zeit eine äußerst geringe Tendenz zum Ausgleich. v. Dungerns Untersuchungen zeigten, daß nach der Vereinigung der schwächer aviden Bestandteile des Diphtheriegiftes mit dem Antitoxin feste Verbindungen zustande kommen, welche auch durch stärker avides Toxin nur unvollkommen getrennt werden. Es resultierte

*) Genaueres darüber findet sich im Kapitel: „Konstitution der Toxine" (C, 6).

[12]) Berl. klin. Wochenschr., H. 35/37, **1903** [*80*].

[13]) Deutsche med Wochenschr., H. 8 u. 9, **1904** [*341*].

aus seiner Arbeit, daß die Bindungserscheinungen bei der Vereinigung von Antitoxin nicht entsprechend den Anschauungen von Arrhenius und Madsen durch das Massenwirkungsgesetz erklärt werden können und die Verbindung Toxin-Antitoxin nicht eine die Heranziehung des Massenwirkungsgesetzes zur Erklärung rechtfertigende Reversibilität aufweist.

Durch Schaffung dieser Grundlagen durch Ehrlich und seine Schule war es ermöglicht, für jedes beliebige Gift, dessen Prüfungskonstanten in der angedeuteten Weise festgestellt waren, das wahre Verhältnis der einzelnen Komponenten: Toxoide, Toxine und Toxone in genau zahlenmäßiger Weise auszudrücken und die allseitig erwünschte Basis einer wirklich rationellen Prüfung zu schaffen Es war also, schließt Ehrlich (l. c. [1], S.-A., S. 32) den betreffenden Abschnitt, „die Immunisierungseinheit nicht mehr ein willkürlicher Begriff, sondern eine exakt bestimmbare und daher jederzeit neu zu produzierende Größe".

Das Resultat all dieser Untersuchungen für die Praxis der Serumprüfung war, daß das labile Toxin als Träger der Maßeinheit endgültig aufgegeben und statt dessen das stabile Antitoxin gewählt wurde. A priori erwies sich auch dieses als absolut nicht unveränderlich. Um seine Stabilität wirklich zu gewährleisten, mußte es als Trockenserum unter Bedingungen aufbewahrt werden, unter denen es dem Einfluß des Sauerstoffes, des Wassers, des Lichtes und der Wärme entzogen war, d. h. Faktoren, von denen man annehmen konnte, daß sie den Wert des Serums mit der Zeit zu beeinträchtigen vermochten. Für die absolute Unveränderlichkeit des Maßstabes aber mußte mit allen zu Gebote stehenden Mitteln Sorge getragen werden; denn einmal verändert oder verloren, war der Maßstab unbrauchbar bzw. unersetzlich und die Grundbedingung einer exakten Wertbemessung vernichtet. Ehrlich selbst (l. c. [1], S.-A., S. 15) hat die Mittel zur Konservierung des Standards ausgearbeitet und in die Praxis der Serumkonservierung eingeführt. Seine Methode eignet sich sowohl zur Konservierung größerer wie auch allerkleinster Mengen trockenen Serums. Stets dürfen nur völlig native Sera ohne jeden Zusatz verwendet werden. Zur Konservierung werden einzelne Dosen, genau abgewogen, in die Serumröhrchen gefüllt und gestaltet sich die weitere Konservierung nach Otto[14]) folgendermaßen:

Die Serumröhrchen bilden den Teil eines Röhrensystems, zu dem noch ein Kölbchen, das zur Aufnahme von Phosphorsäureanhydrid dienen soll, und ein Verbindungsstück gehört. Nachdem das trockene Serum eingefüllt ist, werden die einzelnen Stücke des Röhrensystems aneinandergeschmolzen und zur weiteren vollständigen Evakuierung eine Anzahl solcher Apparate

[14]) Arbeit. aus d. Kgl. Institut f. exper. Ther., H. 2, **1906** [*501*].

mit einer Quecksilber-Luftpumpe in Verbindung gebracht. Unter dem Einfluß des Vakuums wird nun das Wasser, welches bei der gewöhnlichen Exsikkatorvortrocknung noch bis zu 10% in den Trockenseris enthalten sein kann, schnell durch das Phosphorsäureanhydrid absorbiert und zugleich mit dem Sauerstoff entfernt. Nachdem das Röhrchen dann am Endteil abgeschmolzen ist, bleibt es noch längere Zeit unter dem Einfluß des Phosphorsäureanhydrids stehen, bis dieses sichtbar keine Feuchtigkeit mehr aufnimmt, was erkenntlich wird, wenn das durch Klopfen vorsichtig aufgeschüttelte Anhydrid unverändert bleibt. Alsdann wird der das Serum enthaltende Apparatteil abgeschmolzen, und das Serum befindet sich nunmehr unter Bedingungen, die für seine Konservierung vorzüglich geeignet, es gestatten, daß es — dunkel und kühl aufbewahrt — jahrelang sich unverändert hält.

Kommt nun nach Verbrauch eines konservierten Standardserums die Neueinstellung eines solchen in Frage, so ist es natürlich das unbedingte Erfordernis, daß das neue Serum absolut genau auf das alte Serum eingestellt wird. Für die Einstellung eines neuen Diphtheriestandardserums wird eines der oben beschriebenen zugeschmolzenen evakuierten Serumröhrchen geöffnet und sein Inhalt in einer jeweils genau bestimmten Flüssigkeitsmenge gelöst. Mit dieser frischen Serumlösung wird nun zunächst der ungefähre Wert des Serums ermittelt, nachdem zuvor noch die Konstanz der Prüfungsdosis des verwendeten Testgiftes kontrolliert ist. (Vgl. Tab. 1 und 2 nach Otto, l. c. [14].)

Tabelle I.

Kontrolle der Testgiftprüfungsdosis.

| Giftmenge in ccm | Altes Standardserum | Urstandard versucht am | | | | | | Erläuterung |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 4. XI. 1902 | 4. XI. | 7. XI. | 11. XI. | 14. XI. | 18. XI. | 21. XI. | |
| 0,76 | davon | davon | davon | davon | davon | davon | davon | Die Prüfungs- (L+-) |
| 0,77 | ,, | ,, | ,, | ,, | ,, | †4 | ,, | dosis des Giftes |
| 0,78 | †4 | †4 | †4 | †4 | ,, | †3 | †4 | ist demnach = |
| 0,79 | †3½ | †3½ | †3 | †4 | †4 | †3 | †3 | 0,78 ccm |

Tabelle 2.

Ungefähre Einstellung des neuen Standardserums mit 0,78 Gift.

| Serumverdünnung auf ?-fach | Versuch | | | | | | | | | Erläuterung |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | I | II | III | IV | V | VI | VII | VIII | IX | |
| 12,5 | — | dav. | dav. | dav. | dav. | dav. | — | — | — | Unter Benutzung der |
| 12,75 | — | — | — | — | †4½ | ,, | dav. | dav. | †5 | gefundenen Prü- |
| 13,0 | †5 | †5 | †4 | dav. | †4 | †4 | ,, | ,, | †4½ | fungsdosis ist das |
| 13,25 | — | — | — | — | †3 | †3 | †5 | †4 | †4 | neue Serum 13,25- |
| 13,5 | — | †3 | †4 | †3 | †3 | — | — | †3 | †4 | fach, event. aber |
| 13,75 | — | — | — | — | — | — | — | — | †3 | noch 13,0- bzw. |
| 14,0 | †3 | — | — | — | — | — | — | — | — | 13,5-fach |

Erst wenn dies beides geschehen, erfolgt die genaue Einstellung des neuen Serums. Dazu werden die betreffenden ausprobierten Serumverdünnungen gegen dieselben fallenden Dosen Toxin geprüft, mit denen vorher eine I.E. des alten Standardserums eingestellt war. Wie Tabelle 3 zeigt, ist auf diese Weise eine ganz präzise Ermittlung des Wertes eines antitoxischen Serums möglich.

Tabelle 3.

Genaue Einstellung des neuen Standardserums.

| Giftmenge in ccm | am 12.XII.02 als 13-fach | am 12.XII.02 als 13,25-fach | am 15. II. 03 als 13,25-fach | am 15. II. 03 als 13,5-fach | Erläuterung |
|---|---|---|---|---|---|
| 0,76 | davon | davon | davon | — | Das neue Serum ist |
| 0,77 | ,, | ,, | ,, | †4 | genau 13,25-fach |
| 0,78 | ,, | †4 | †4 | †4 | |
| 0,79 | ,, | †4 | †3 | †3 | |

Als Prüfungsgift könnte man natürlich jedes beliebige verwenden. Dabei wäre aber durch die sukzessiven Vergleichsreihen der Standardeinheit und andererseits beliebiger Verdünnungen des Probeserums mit steigenden Toxindosen ein recht großer Verbrauch an Versuchstieren unumgänglich. Man benutzt daher in der Praxis die Erfahrung, daß Gifte in ihren prüfungstechnischen Eigenschaften eine gewisse Zeit konstant bleiben. Beim Diphtheriegift ist dies einfach in der Konservierung in der gewöhnlichen Form (unter Toluol) möglich, sobald nur erst die Gifte „abgelagert" sind. Solche konstant bleibenden Gifte bezeichnet man als Standard- oder Testgifte.

Mit diesen Standardgiften werden dann die bereits erwähnten L-Dosen bestimmt, von denen die $L_3$-Dosis in der ursprünglichen Prüfungsmethode als Testdosis gegolten hatte, die aber der subjektiven Beurteilung stets einen großen Spielraum ließ, was gerade in der amtlichen Prüfungspraxis leicht zu Differenzen führen konnte. Es bedeutete daher eine wesentliche Verbesserung, daß für das neu ausgearbeitete Meßverfahren Ehrlich i. J. 1898 statt der bis dahin üblichen $L_0$-Dosis den $L_+$-Wert als Prüfungsdosis einführte. Während nämlich das Urteil, ob noch eine geringgradige Reaktion am 4. Tage vorhanden ist oder nicht, bei der ersteren Methode bei verschiedenen Beobachtern sehr verschieden ausfallen kann, wurde durch Einführung der $L_+$-Dosis als Prüfungsdosis an Stelle des unsicheren, mehr dem subjektiven Ermessen überlassenen Befundes ein objektives Kriterium gesetzt. Der Tod bzw. das Überleben des Tieres ist als solches unanfechtbar und zeigt gewissermaßen rein automatisch den Wertgehalt des Serums an. Weiter verschärft wurde die Wertbemessung noch dadurch, daß fortan nicht mehr der neutralisierende Wert einer $^1/_{10}$, sondern der vollen I.E. ermittelt wurde. Durch die genannten Verbesserungen wurde die neue Prüfungsmethode so genau,

daß ihre Fehlerquelle auf knapp 2% sich reduzierte. Ihrer Genauigkeit ist es ferner allein zu verdanken, daß auch das Ausland fast allgemein sich den Ehrlichschen Maßstab zu eigen gemacht hat, wodurch für die Einheitlichkeit der Wertbemessung des Diphtherieheilserums und damit für die Beurteilung der Serumtherapie überhaupt außerordentlich viel gewonnen wurde. So wird zurzeit die Ehrlichsche „Immunitätseinheit" auch im Auslande von einer großen Zahl staatlicher Institute und wissenschaftlicher Laboratorien, die als Abonnenten des Frankfurter Instituts regelmäßig in zweimonatlichem Turnus eine bestimmte Quantität frisch eingestellten Standardserums erhalten, bei der Wertbemessung der Diphtheriesera verwendet. Es ist vielleicht nicht uninteressant, zu erfahren, daß beispielsweise zurzeit über 60 Anstalten in Ländern der ganzen Welt ihr Gift auf das Frankfurter Standardserum einstellen.

In Deutschland ist für die Wertbemessung des staatlich kontrollierten Diphtherieheilserums folgende amtliche, von Ehrlich ausgearbeitete und vom Ministerium genehmigte Prüfungsvorschrift maßgebend.

„1. Als Maßstab für die Serumbestimmung dient ein unter Ausschluß von Sauerstoff und Wasser konserviertes Serumpulver von genau bekanntem Wert. Dasselbe befindet sich in genau abgemessenen Quantitäten in besonders gearbeiteten Vakuumröhrchen. Die zurzeit im Institut vorhandenen Apparate sind mit je 2 g eines Trockenantitoxins von 1700 (jetzt 5925-)facher Stärke gefüllt.

2. Die Auflösung des Serums hat, um eine möglichst genaue Haltbarkeit zu gewährleisten, in einem aus gleichen Teilen 10% Kochsalzlösung und Glyzerin bestehenden Gemenge (jetzt einer Mischung von $^2/_3$ Glyzerin und $^1/_3$ physiologischer NaCl-Lösung) zu erfolgen. Es ist alle 3 (jetzt 2) Monate ein Röhrchen zu öffnen und eine neue Lösung herzustellen. Von dem zurzeit im Institut aufbewahrten Trockenserum wird der Inhalt eines Röhrchens in 200 (jetzt 1185) ccm des oben genannten Gemisches gelöst und so eine Testserumlösung von 17facher (jetzt 10facher) Stärke hergestellt.

3. Die jetzige Testgiftdosis wird mit Hilfe einer IE ermittelt, wie eine solche z. B. in 1 ccm der 17fachen (bzw. 10fachen) Verdünnung des in Nr. 2 erwähnten 17 (bzw. 10) fachen Testserums enthalten ist. Es wird diese Serummenge mit steigenden Mengen Gift versetzt und durch eine möglichst genaue Versuchsreihe der Grenzwert ermittelt, bei dem gerade ein den Tod des Versuchstieres in den ersten 4 Tagen herbeiführender Giftüberschuß manifest wird. Das so ermittelte Giftquantum stellt die jetzige Prüfungsdosis dar. Mit der gleichen Serumdosis erfolgt zur genauen Charakterisierung des Giftes die Bestimmung eines zweiten Grenzwertes, welcher die Giftdosis zu ermitteln hat, welche bei der Mischung mit der obigen Serummenge gerade neutralisiert wird.

4. Die Bestimmung des Wertes eines Diphtherieserums erfolgt mittels der nach Nr. 3 festgestellten Testgiftdosis in folgender Weise: die betreffende Testgiftdosis, z. B. 0,39 eines im Institut geprüften Giftes, wird mit 4 ccm einer dem angegebenen Prüfungswert entsprechenden Serummenge gemischt.

Da die Testgiftdosis auf 1 ccm des einfachen oder 4 ccm eines ¼fachen Normalserums eingestellt wird, wird bei einem Serum von xfacher Stärke die Serumverdünnung ¼ x sein müssen, also bei der Prüfung eines 100fachen Serums $^1/_{400}$ betragen.

5. Die erhaltene Mischung wird einem Meerschweinchen von 250 bis 280 g rein subkutan injiziert. Sterben bei der von den beiden Mitgliedern des Instituts ausgeführten Prüfung die Versuchstiere innerhalb der ersten 4 Tage, so besitzt das Serum nicht die angegebene Stärke. Sterben die Tiere am 5. bis 6. Tage, so steht das Serum knapp an der Grenze des Zulässigen und ist, um die voraussichtliche baldige Einziehung zu vermeiden, den Fabriken eine 5—10% betragende Aufbesserung zu empfehlen. Indurationen, die bei den Versuchstieren auftreten, sollen dagegen keinen Grund zur Beanstandung geben.

Von den gestorbenen Tieren ist eine Sektion vorzunehmen und insbesondere auf Komplikationen mit vorher bestehenden Krankheiten (Tuberkulose, Pseudotuberkulose, Pneumonie) zu achten, welche eine Überempfindlichkeit des Versuchstieres bedingen können.

6. Als Testgift können sowohl flüssige wie feste Gifte verwendet werden, falls bei ihnen die in Nr. 3 definierten Grenzwerte scharf zu ermitteln sind. Kommen flüssige, durch Toluol konservierte Gifte zur Verwendung, so soll dies nur geschehen, wenn 1. durch längere Voruntersuchungen die Haltbarkeit der Prüfungskonstanten erwiesen ist, 2. wenn die Prüfungsdosis 1 ccm nicht überschreitet. Die Untersuchungen über die Qualität der Testgifte sind weiter fortzusetzen.

7. Die Testgifte sind, wenn flüssig, allmonatlich durch Kulturverfahren auf Sterilität zu prüfen.

8. Das Testgift ist alle 6 Wochen mittels der Testserumdosis neu zu bestimmen, indem jedesmal die Prüfungsdosis und der Glattwert neu ermittelt wird. Sollte bei der Nachprüfung sich irgendwie erhebliche Abweichung von der Prüfungsdosis herausstellen, so ist das Gift als in Zersetzung befindlich anzusehen und durch ein neues zu ersetzen.

9. Die Fabrikationsstätten sind darauf aufmerksam zu machen, daß das Testgift in kleineren Quantitäten sich leicht zersetzt, und daß insbesondere schon eine kurze Belichtung eine erhebliche Abschwächung hervorrufen kann. Es ist daher den Fabriken anzuraten, etwa alle 3 Wochen das Gift von neuem vom Institut zu beziehen."

Die Herstellung des Standardserums geschieht so, daß der Inhalt — 2 g eines zurzeit 5925fachen Diphtherietrockenserums — eines Standardröhrchens in soviel Glyzerinkochsalzlösung (also 1185 ccm) und zwar in einem eigens dafür konstruierten Mischkolben vorsichtig gelöst wird, so daß 1 ccm der resultierenden Lösung genau 10 I.E. enthält. Diese in der amtlichen Kontrolle zwei Monate gültige Standardlösung muß nun zunächst mit dem jeweiligen Testgift geprüft werden.

Da die Herstellung von Diphtherietrockengiften äußerst schwierig ist, so werden bei der Diphtherieprüfung ausschließlich flüssige, mit Toluol konservierte Gifte benutzt. Auch ihre Gewinnung gelingt nur mit kräftig giftbildenden Kulturen von reinem Oberflächenwachstum. Wegen der

mühsamen Einstellungsarbeit eines neuen Testgiftes empfiehlt es sich stets, gleich größere Mengen Gift herzustellen, die man nach einer oberflächlich orientierenden Prüfung ca. 1 Jahr lang, unter Toluol konserviert, bei niedriger Temperatur und vor Licht geschützt lagern läßt. Nach dieser Zeit ist die Umlagerung der Toxine in der Regel abgelaufen, und die nunmehr ermittelten Prüfungsdosen zeigen sich, wie die Erfahrung in der Frankfurter prüfungstechnischen Abteilung lehrt, lange Zeit hindurch unverändert. Es sind nämlich seit 1897, d. h. seit der Einführung der neuen Ehrlichschen Prüfungsmethode, 12 Gifte in Gebrauch gewesen, das letzte davon, das sog. April-Gift 1909, seit Oktober 1912. Die folgenden Tabellen nach Otto und Boehncke (Handb. der pathog. Mikroorgan. von Kolle und v. Wassermann, 2. Aufl., Bd. II, 1913, S. 1175) erläutern ohne weiteres die Einstellung eines Testgiftes, wobei bemerkt sein mag, daß zur genauen Charakterisierung außer der Prüfungsdosis ($L_+$) stets auch die $L_0$ — und die absolut tödliche Dosis der Gifte ermittelt werden.

Einstellung des Diphtheriegiftes März 1908 (= M.G. 08).

I. Bestimmung der $L_+$-Dosis.

| Dosis d. Giftes in ccm | Datum des Versuchs | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 24. IV. 09 | 29. IV. 09 | 5. V. 09 | 8. X. 09 | 15. XII. 09 | 5. I. 10 | 10. I. 10 | 8. II. 10 |
| 0,36 | | davon | | | | | | |
| 0,37 | | ,, | | davon | | | | |
| 0,38 | | ,, | | ,, | davon | davon | davon | davon |
| 0,385 | | ,, | davon | †5½ | | ,, | ,, | ,, |
| 0,39 | | †5 | †4 | davon | †3½ | †4 | †4 | †4 |
| 0,395 | | | †3 | | †3 | †3½ | †3 | †3 |
| 0,4 | †3 | | †4 | †4 | †2 | | | |
| 0,45 | †2 | | | | | | | |

Zu 1 I.E werden fallende Mengen Toxin gefügt und Meerschweinchen subkutan injiziert. Die Giftwirkung muß genügend stark sein, daß die Tiere am 4. Tage akut unter typischem Befunde eingehen.

II. Bestimmung der einfach tödlichen Dosis.

| Dosis | 15. XII. 09 | 18. XII. 09 | 21. XII. 09 | 5. I. 10 |
|---|---|---|---|---|
| 0,005 | davon | davon | davon | davon |
| 0,006 | | †3 | †5 | ,, |
| 0,0065 | | †4 | †4½ | †4 |
| 0,007 | | †3 | †2½ | †2½ |
| 0,0075 | †3 | †2½ | | |
| 0,01 | †2 | | | |

Fallende Dosen des verdünnten Giftes werden Meerschweinchen subkutan injiziert. Die Ermittlung dieser Dosis kann bei den individuellen Verschiedenheiten der Tiere häufig schwierig werden.

III. Bestimmung der $L_0$-Dosis.

| Dosis | 15. XII. 09 | 18. XII. 09 | 10. I. 10 |
|---|---|---|---|
| 0,2 | zu wenig | | |
| 0,25 | ,, | | |
| 0,275 | ,, | zu wenig | |
| 0,29 | | | ? ob ausreichend |
| 0,3 | ? ob $L_0$ | $L_0$ | $L_0$ |
| 0,31 | | | etwas zu stark |
| 0,32 | | | zu stark |
| 0,33 | | | Ödem |

Gift in fallenden Dosen mit je 1 I.E gemischt wird Meerschweinchen subkutan injiziert. Das Tier mit der $L_0$-Dosis muß am 4. Tage glatt sein. Um die hierfür richtige Reaktion zu treffen, tötet man zweckmäßig sämtliche Tiere am 2. Tage. Es läßt sich dann mit Sicherheit diejenige Reaktion feststellen, welche erfahrungsgemäß gerade für $L_0$ hinreicht. Daß dies stets ein nur sehr subjektiv bestimmter Wert sein kann, dürfte ohne weiteres klar sein, und ist deshalb auch, wie oben erwähnt, der $L_0$-Wert seinerzeit von Ehrlich als Prüfungsdosis aufgegeben worden.

Die Ausführung der staatlichen Diphtherieserumprüfung, die für alle in Deutschland lediglich im Apothekenverkehr erhältlichen Diphtheriesera obligatorisch ist, und bei der es sich um keine Eichung, sondern um eine Messung der von der Fabrik angegebenen Wertigkeit handelt, und bei der endlich außer dem Wert auch die Unschädlichkeit des fraglichen Heilserums geprüft wird, wird an der Hand der amtlichen Prüfungsvorschrift bei einem beispielsweise 500fachen Serum folgendermaßen vorgenommen:

Zur Sterilitätsprobe werden je 5 Tropfen des Serums in ein Traubenzuckeragar- und 2 Bouillonröhrchen getan und außerdem eine Agarplatte gegossen. Sodann wird 1 ccm Serum mit physiologischer Kochsalzlösung auf 1:2000 verdünnt. Von der Verdünnung 1:2000 werden 4 ccm (= 1 ccm 1:500) in einem Fläschchen mit der $L_+$-Dosis mittels Präzisionspipetten gemischt, und diese Mischung wird einem Meerschweinchen von 250 g streng subkutan in der Mitte des Bauches injiziert. Ein zweites Meerschweinchen (300 bis 400 g) erhält 10 ccm Serum subkutan (zur Feststellung etwaiger Tetanuskeime) und eine 15 g schwere Maus 0,5 ccm Serum ebenfalls subkutan (zur Prüfung des Phenolgehaltes). Das Prüfungstier darf lokale Erscheinungen darbieten, aber der Giftwirkung nicht erliegen, wenigstens nicht innerhalb der ersten 4 Tage; stirbt es am 5. oder 6. Tage, so steht das Serum an der Grenze des Zulässigen, stirbt es früher, so wird das Serum beanstandet.

Das zweite (schwerere) Meerschweinchen muß die Injektion von 10 ccm gut vertragen und munter bleiben, ebenso darf die Maus nicht sterben. Ferner wird bei jedem Diphtherieserum der Eiweißgehalt bestimmt. Es geschieht dies, um zu verhindern, daß etwa zur Erhöhung des Antitoxingehalts Konzentrationen des Serums seitens der Fabriken vorgenommen werden. Denn so erstrebenswert in Hinsicht auf den größeren Heilwert auch ein hoher Antitoxingehalt des Diphtherieserums ist, wie die Arbeiten von Marx und Berghaus gezeigt haben, so darf ein solches hochwertiges Serum (Antitoxingehalt mindestens 500 I.E. in 1 ccm) natürlich nicht durch einfache Eindickung des nativen Serums erreicht werden, weil in diesem Falle gleichzeitig mit den Antitoxinen auch jene uns noch unbekannten Serumbestandteile konzentriert werden, welche die mehr oder minder gefürchteten anaphylaktischen Erscheinungen bedingen. Es werden daher alle Diphtherieheilsera, welche mehr als 12% Eiweiß enthalten (in nativen Seris schwankt der Eiweißgehalt meist zwischen 8,5—11,0%), beanstandet.

In neuester Zeit bemüht sich die Industrie in Konsequenz dieser Anschauungen möglichst eiweißarme Sera (4,5—5,5%) oder aber solche von verschiedenen Tierspezies auf den Markt zu bringen, um Anaphylaxieerscheinungen nach Möglichkeit vorzubeugen. Während mit letzteren bei einmaliger Reinjektion dieser Zweck sicher erreicht wird, scheint bei den ersteren, wenigstens im Tierversuch, nach Boehncke und Mouriz[15]) wohl eine Verminderung, keineswegs aber eine Beseitigung der Anaphylaxiegefahr erreicht zu werden.

Was den Karbolzusatz anbetrifft, so ist dieser für vom Pferde stammende Sera vorgeschrieben, um bei okkultem Rotz dessen Übertragung zu verhindern, was nach Bonhoffs[16]) Untersuchungen durch 0,5% Karbolzusatz sicher erreicht wird. Wie wichtig übrigens auch in praktischer Beziehung die Unschädlichkeitsprüfungen sind, hatte sich bereits im Anfang der Diphtherieserumtherapie gezeigt, wo ein bei einer Seruminjektion eingetretener Todesfall ohne weiteres „giftigen" Eigenschaften der betreffenden Kontrollnummer zugeschrieben war, was aber durch Ehrlichs[17]) Ausführungen sofort von Grund aus widerlegt werden konnte.

Um zu verhindern, daß erheblich abgeschwächte Diphtheriesera im Verkehr kursieren, ist seinerzeit bestimmt worden, daß alle Diphtheriesera 6 bzw. 24 Monate nach ihrer Zulassung wieder geprüft werden. Bei mehr als um 10% abgeschwächten Seris erfolgt sofortige Einziehung. Bereits Marx[18]) konnte zeigen, daß unter den Verhältnissen der Praxis eine erhebliche Abnahme des Antitoxingehalts eine Seltenheit ist; dasselbe fand Otto[19]) auch für Diphtheriesera bestätigt, die im tropischen

[15]) Boletin del Instituto de Hygiene nacional, **IX**, H. 35, **1913** [*318*].
[16]) Berl. klin. Wochenschr., H. 5, **1897** [*319*].
[17]) Berl. klin. Wochenschr., H. 20, **1896** [*59*].
[18]) Festschr. z. 60. Geb. v. Robert Koch, 2. Abschn., S. 451, **1903** [*433*].
[19]) Arch. f. Schiffs- u. Tropenhygiene, **X**, 763, **1906** [*500*].

Klima sich befunden hatten. Neuerdings hat Boehncke[20]) ausgedehnte Untersuchungen über die Haltbarkeit des Antitoxins im Diphtherieserum an dem reichen Material des Frankfurter Instituts angestellt und gefunden, daß der einmal gewährleistete Gehalt an I.E. selbst noch nach 10 Jahren unverändert bestand. Boehncke hat daher vorgeschlagen, einmal die Nachprüfungsbedingungen zu verschärfen, dann aber die Gewährsdauer der Diphtheriesera, die jetzt 3 Jahre beträgt, auf 4 evtl. 5 Jahre zu verlängern.

Erwähnt sei ferner, daß Boehncke in neueren, noch nicht veröffentlichten Untersuchungen über den Einfluß der Belichtung auf die Haltbarkeit des Antitoxins auch hierbei eine relativ große Widerstandsfähigkeit des Antitoxins im Diphtherieserum feststellen konnte, so zwar, daß beispielsweise ein 640faches Serum in farbloser Glasflasche bisher nach 6monatiger Belichtung durch das diffuse Tageslicht nur eine relativ geringe Abschwächung auf ca. 620 iE. in 1 ccm zeigte. Bei Verwendung farbiger Gläser (grün, braun, violett, blau) zeigte sich nach 3 Monaten nirgends, nach 6 Monaten nur im blauen Fläschchen ein sehr geringer Antitoxinverlust.

Angeführt mag endlich noch werden, daß auch die Keimfreiheit aller im Verkehr befindlichen Diphtheriesera in Deutschland in mehreren Krankenhäusern ständig nachgeprüft wird, und daß verunreinigte Sera sofort der Einziehung anheimfallen (was aber schon seit vielen Jahren, wie hier gleich bemerkt sein mag, nicht mehr erforderlich war).

Während die Ehrlichsche Methode zur Wertbemessung des Diphtherieantitoxins in einigermaßen reichlicher Menge an Einfachheit und Genauigkeit unübertroffen ist, so wird sie unausführbar, wenn in einem Serum kleinere Mengen von Diphtherieantitoxin als 0,1 I.E. in 1 ccm enthalten sind, wie dies auch aus der Arbeit von Lubowski[21]) hervorgeht. Mit ihrer Hilfe konnten also vielfache, besonders klinisch wichtige Fragen nicht studiert werden, wie z. B. das Vorkommen von Diphtherieantitoxin im Blut normaler Tiere, Bestimmung des Resorptionsverlaufs und der Ausscheidung des Diphtherieantitoxins, Auswertung des Gehalts an spezifischen Schutzkörpern im Serum Diphtheriekranker u. a. m. Jetzt stehen uns zwei sehr subtil arbeitende Methoden zur Bestimmung kleinster Mengen von Diphtherieantitoxin zu Gebote. Bei beiden wird als Indikator in der Hauptsache die ödemerregende Wirkung des Diphtherietoxins benutzt. Die erste Methode stammt von Marx[22]), der sie in Gemeinschaft mit Ehrlich ausarbeitete und sich der subkutanen Injektion des Giftserumgemisches bediente. Bei der zweiten erst neuerdings von anderer Seite (Römer) angegebenen Methode

[20]) Arbeit. a. d. Kgl. Instit. f. exper. Therapie, H. 5, S. 3, **1913** [*312*].
[21]) Zeitschr. f. Hyg. u. Inf.-Krankh., **XXXV**, 87, **1900** [*412*].
[22]) Centralbl. f. Bakt. **XXXVI**, 141, **1904** [*434*].

ist die subkutane Injektion durch die intrakutane ersetzt. Marx benutzte als Grundlage die Tatsache, daß noch weit untertödliche Giftmengen an der Injektionsstelle ödemerregend wirken können. Durch Mischen von Toxinverdünnungen mit antitoxinhaltigem Serum werden diese Lokalreaktionen bei entsprechendem Gehalt an Antitoxin verhütet. Marx operierte mit Giften, von denen $^1/_7$ bzw. $^1/_{12}$ der Dosis letalis zur Ödemwirkung genügten. Seine Methodik gestaltet sich folgendermaßen: Nach Herstellung der hohen Toxinverdünnung wird je 1 ccm davon mit 1 ccm der zu prüfenden Serumverdünnungen in kleinen Fläschchen gemischt und die Mischung 2 Stunden bei 37° und danach 22 Stunden im Eisschrank der Bindung überlassen. Die Zeit ist nötig zum sicheren Reaktionsablauf zwischen Toxin und Antitoxin. Nach Ablauf dieser Zeit wird ein möglichst kleines Quantum davon (0,5, jedoch nie mehr als 0,6 ccm) einem Meerschweinchen unter die Bauchhaut streng subkutan injiziert. Bei jedem Tier muß eine Kontrolle mit der betreffenden Giftmenge in Kochsalzlösung erfolgen. Bei Verwendung nicht zu kleiner Tiere und möglichst geringer Flüssigkeitsmengen (0,2 ccm) kann man, wie dies Boehncke[23]) stets gelang, ohne Beeinträchtigung der Schärfe der Reaktion bei einem Tier 4 Injektionen ausführen. Nach Verlauf von 48 Stunden werden die Versuchstiere getötet. Marx konnte mit seinem hochwirksamen Toxin, dessen ödemerzeugende Wirkung 0,0005 ccm = $^1/_{10}$ der absolut tödlichen Dosis betrug, den Antitoxingehalt des Serums noch bestimmen, wenn dieser mindestens $^1/_{240}$ I.E. in 1 ccm war, wie folgende Versuchsreihe zeigt:

| Serumdosis + 0,0005 Gift. | Erfolg: |
|---|---|
| $^1/_{600}$ I.E.: | Injektionsstelle glatt |
| $^1/_{800}$ | desgl. |
| $^1/_{1000}$ | „ minimale Rötung |
| $^1/_{1200}$ | „ „ „ |
| $^1/_{1500}$ | Ödem schwächer als Kontrolle |
| $^1/_{2000}$ | starkes Ödem wie Kontrolle |
| Kontrolle | starkes Ödem. |

Hiernach genügte also $^1/_{1200}$ I.E. zur Paralysierung von 0,0005 ccm Toxins. Da nur 0,2 ccm injiziert war, mußte das Serum $^1/_{240}$ I.E. im Kubikzentimeter enthalten. Diese Methode ist mit Vorteil von verschiedenen Autoren zum Nachweis kleinster Mengen Diphtherieantitoxins benutzt worden, z. B. von Salge zur Berechnung der minimalen Antitoxinmengen, welche Säuglinge mit der Ammenmilch eingeführt erhielten, sowie von Boehncke[24]) zur Bestimmung der im Anfangsstadium der

[23]) Zeitschr. f. Chemotherapie, **I**, 136, **1912** [*307*].
[24]) Berl. klin. Wochenschr., H. 25, **1912** [*306*].

Immunisierung nur geringen Erhöhung des antitoxischen Titers unter dem Einfluß von gleichzeitigen Salvarsangaben gegenüber entsprechenden Kontrollseris. Bei mehrfachen vergleichenden Bestimmungen mit der erwähnten intrakutanen Methode konnte dabei ein Vorteil nicht ersichtlich werden. Andere Autoren haben sich der Marxschen Methode in abgeänderter Form auch mit Erfolg zum Nachweis von Diphtherietoxin im Blut diphtheriekranker Kinder bedient.

Wie die vorstehenden Ausführungen dartun, berücksichtigt die Ehrlichsche Wertbestimmung lediglich die Antitoxine im Serum, da diese nicht nur nach seiner, sondern jetzt wohl ziemlich allgemeiner Ansicht allein als die Träger der Serumwirkung anzusehen sind. Ursprünglich glaubte man für die vollständige Wertbemessung des Diphtherieserums 4 Versuchsreihen anstellen zu müssen, die folgendes berücksichtigten:

1. den Immunisierungswert gegenüber einer Infektion;
2. den Heilwert gegenüber einer Infektion;
3. den Immunisierungswert gegenüber einer Intoxikation;
4. den Heilwert gegenüber einer Intoxikation.

Bei diesen von v. Behring angestellten Untersuchungen ließ sich der Satz aufstellen, daß ein unveränderliches Verhältnis zwischen den genannten 4 Werten besteht, so zwar, daß, wenn man einen derselben genau kennt, infolge des bestehenden Parallelismus auf die anderen drei bestimmte Rückschlüsse gestattet sind. Demgegenüber wurde von französischer Seite (Roux) behauptet, daß diese Beziehungen zwischen dem antitoxischen Wert eines Serums einerseits und dem präventiven und kurativen Wert desselben andererseits in dem genannten Maße nicht beständen, sondern vielmehr bisweilen hochwertige Sera weit geringere heilende und schützende Eigenschaften besäßen, als geringwertige. Zur Klärung dieser Fragen stellte Marx[25]), fußend auf früheren Versuchen von Dönitz[26]), mit Toxin und Antitoxin verschiedenster Stärke und wechselnder Herkunft umfassende Experimente folgender Art an:

1. Heilversuche an Meerschweinchen: Gift subkutan, 3 Stunden später das Serum intraperitoneal.

2. Immunisierungsversuche an Meerschweinchen: Serum intraperitoneal, 6 Stunden später subkutane Injektion des Toxins.

3. Heilversuche an Kaninchen: Gift und — nach verschiedenen Zeiten — Antitoxin intravenös.

4. Immunisierungsversuche an Kaninchen: intravenöse Injektion mit Antitoxin und unmittelbar darauf des Toxins.

Dabei zeigte sich, daß die toxinneutralisierende Kraft eines Di-

---

[25]) Zeitschr. f. Hyg. u. Inf.-Krankh., **XXXVIII**, 372, **1901** [*430*].

[26]) Arch. intern. de Pharmacodynamie **V**, 425, **1899** [*336*].

phtherieheilserums, d. h. der Gehalt desselben an Antitoxineinheiten, sowie die immunisierende und heilende Wirkung 3 Faktoren sind, die in engster Beziehung stehen und zwar so, daß der Immunisierungs- und Heilwert eines Serums dem Gehalt an I.E. direkt proportional ist. Die gegenteiligen Ergebnisse eines französischen Autors (Cruveilhier), die unter Verwendung nicht des Diphtherietoxins, sondern lebender Diphtheriekultur erzielt waren, wurden bald erschüttert durch die Versuche der Amerikaner Steinhardt und Banzhaf, die, mit der gleichen Methodik wie der französische Autor arbeitend, zu ganz entgegengesetzten Resultaten kamen, nämlich, daß der Heilwert des Serums von dem Antitoxingehalt abhängig ist.

In den letzten Jahren ist dann die Streitfrage wieder in Fluß gekommen infolge der Behauptungen von Kraus und Schwoner in ihrer Arbeit „Über Beziehungen des Antitoxingehaltes des Diphtherieserums zu dessen Heilwert". Es sollten danach zwischen der Antitoxinmenge und dem Heilwert des Diphtherieserums keine fixen Beziehungen bestehen und weiter dem hochwertigen Diphtherieserum meist direkt eine geringere Heilwirkung zukommen, als einem geringerwertigen. Endlich sollte die Avidität, i. e. der Heilwert eines Serums, von der Zu- oder Abnahme der Antitoxinmenge während der Immunisierung unabhängig sein und als eine prinzipielle Eigenschaft des Antitoxins bei der Wertbemessung besonders berücksichtigt werden.

In Übereinstimmung mit Belfanti konnte nun Berghaus[27–29]) auf Grund seiner in 3 Arbeiten niedergelegten Befunde wieder die Sicherheit der Ehrlichschen Wertbemessung von neuem bestätigen. Berghaus, der seine Versuche zum Teil mit denselben Seris wie Kraus anstellte, verwendete nicht, wie dieser, die subkutane Methode der Gift- und Serumeinverleibung, sondern zunächst nach dem Vorgang von Morgenroth[30]) die intrakardiale Gift- und Serumeinspritzung. Konnte er den alten Satz wieder bestätigen, „daß für die Heilwirkung nicht die Herkunft der Sera noch ein anderes Moment, sondern nur ein Faktor in Betracht kommt, und zwar nur der Gehalt an Antitoxineinheiten", so glaubte er aus seinen experimentellen Resultaten weiter die Folgerung ziehen zu dürfen, daß für die Prüfung der Frage der Aviditätsverhältnisse des Toxins und Antitoxins die Subkutanmethode, weil zu unzuverlässig, besser nicht in Anwendung gezogen wird. Da er fand, daß 1 Stunde nach der Injektion derselben Giftmenge

[27]) Centralbl. f. Bakteriologie, **XLVIII**, 450, **1908** [*284*].
[28]) Centralbl. f. Bakteriologie, **XLIX**, 281, **1909** [*286*].
[29]) Centralbl. f. Bakteriologie, **L**, 87, **1909** [*287*].
[30]) Berl. klin. Wochenschr., H. 20, **1904** [*454*].

| | |
|---|---|
| bei der subkutanen Injektion | 40,0 I.E. |
| „ „ intraperitonealen Injektion | 7,0 I.E. |
| „ „ intrakardialen Injektion | 0,08 I.E. |

zur Heilung nötig waren, so ergab sich daraus die bedeutsame Tatsache, daß die Heilwirkung des Serums bei direkter Einverleibung in die Blutbahn 500mal größer, als bei der subkutanen und noch 80—90mal größer, als bei der intraperitonealen Injektion war.

Wenn nun auch Kraus und Schwoner in weiteren Arbeiten entgegen den Feststellungen von Berghaus, die von anderer Seite noch bestätigt und erweitert wurden, daran festhalten, daß Heilwert und Antitoxingehalt nicht in direkter Proportionalität stehen, und als Kriterium für den Ausfall der Versuche nicht so sehr die Art der Beibringung von Gift und Serum gelten lassen, als den zeitlichen Zwischenraum zwischen Toxin- und Antitoxininjektion, so wird man zurzeit unter Würdigung aller pro und contra, besonders auch unter Berücksichtigung der ganz neuerdings von Neufeld und Haendel erhobenen Befunde doch die Ermittlung des Gehalts an Antitoxinen für die Wertbemessung der rein antitoxischen Sera, insbesondere des Diphtherieserums, nach wie vor für völlig ausreichend zu erklären haben.

---

Die Wertbemessung des Tetanusatitoxins beruht auf denselben Grundsätzen wie die des Diphtherieheilserums, doch machten gewisse Eigentümlichkeiten des Tetanusgiftes einige Abänderungen in der praktischen Durchführung notwendig. Es ist nämlich das Tetanustoxin gekennzeichnet einmal durch eine relativ sehr geringe Avidität zu seinem Antitoxin und weiter durch eine ganz erhebliche Labilität. Infolgedessen ergaben sich mancherlei Schwierigkeiten, die erst überwunden werden mußten, um zu einer sicher arbeitenden Versuchsanordnung zu gelangen. Wie bei der Auswertung des Diphtherieheilserums wurde auch hier die Methode der Mischung eingeführt, jedoch mit der von Ehrlich (l. c. [2]) angegebenen Abänderung, daß das Toxin-Antitoxingemisch $^3/_4$ Stunde lang bei $37^0$ aufbewahrt wurde, um die Reaktion in vitro zu beschleunigen und stets gleiche Bedingungen zu setzen. Denn naturgemäß schwankte die Menge des bei der Einwirkung von Gift und Gegengift entstehenden neutralen Gemisches infolge des geringen Vereinigungsbestrebens in hohem Grade, je nach der Länge der Reaktionszeit und der Konzentration der Lösungen. Um die hierdurch bedingten Fehlerquellen auszuschalten, war es notwendig, stets unter den gleichen Bedingungen in bezug auf Zeit und Verdünnungen der Lösungen zu arbeiten und namentlich die Versuchsreihen stets unter gleichzeitiger Kontrolle eines Standardserums

anzusetzen. Es werden also immer zwei parallele Versuchsreihen angelegt, die eine mit Standardserum, die andere mit dem zur Prüfung gestellten Präparat.

Die weitere Schwierigkeit war bedingt durch die bereits erwähnte Labilität des Giftes. In der ersten Zeit verfuhr man daher so, daß man zu jeder Prüfung eine gewisse Menge Trockengift jedesmal frisch löste und zentrifugierte (Dönitz, l. c. [2]), was zwar die Prüfung erheblich komplizierte, aber bei der Unmöglichkeit der Konservierung flüssigen Testgiftes noch der einzige Ausweg blieb. Später benutzte man mit gutem Erfolge die Ehrlichsche Serumkonservierungsmethode auch für das Testgift. Die Art der Giftgewinnung spielt dabei gar keine Rolle. Eine Hauptbedingung aber für das Testgift ist seine völlige Sporenfreiheit, die durch wiederholtes Aussalzen, Wiederauflösen und Zentrifugieren der Giftlösung nach Marx (l. c. [18], 1. Abschnitt) gewonnen wird.

Nach Vortrocknung im Exsikkator wird dann das Gift im Verhältnis 1:2 in Wasser gelöst und mit Präzisionspipetten in absolut gleichen Dosen in die Vakuumröhrchen gefüllt und, wie schon oben beschrieben, weiter behandelt. Die Menge des einzufüllenden Giftes richtet sich dabei nach den ermittelten Giftwerten des Toxins. Im Frankfurter Institut sind die Werte so berechnet, daß 25 ccm Wasser gebraucht werden zur Herstellung der Normaltestgiftlösung aus den mit 0,5 ccm einer Giftlösung 1:2 beschickten Röhrchen. Die so eingeschmolzenen Gifte sind außerordentlich beständig. Bei einen Monat dauernder Aufbewahrung im Brutschrank von 37° blieben sie unverändert und selbst die wochenlang dauernde Erwärmung auf 50° bewirkte nur eine geringe Abschwächung, wie Marx feststellen konnte (l. c. [18]).

In gleicher Weise wie das Prüfungsgift wird auch das Standardserum in Einzelprüfungsdosen evakuiert vorrätig gehalten, da das Tetanusantitoxin in Glyzerinlösung in seinem Wertgehalt nicht absolut konstant bleibt. Bei den minimalen Mengen, die für jede Prüfung nötig sind, bildet das Serum (jetzt z. B. 0,006 g eines 43,33fachen Serums = 0,26 I.E.) im evakuierten Röhrchen einen gerade nur sichtbaren Schleier am Glase. Der Gang einer offiziellen Wertbemessung, für welche auch hier das Ehrlichsche Prinzip des Vergleichs mit dem Standardserum maßgebend ist, gestaltet sich danach so:

Nach entsprechender Verdünnung des Testgiftes, Standardserums und des zu prüfenden Serums derart, daß in 1 ccm der Verdünnung $^1/_{100}$ A.E. enthalten sein soll, erfolgt die Ansetzung der Giftserumgemische in vitro, wozu 2 Reihen von je 8 Fläschchen gehören. In die erste Serie kommt je 1 ccm Standardserum, in die zweite Reihe je 1 ccm der von dem zu prüfenden Serum hergestellten Lösung. Zu jeder Reihe wird Gift in steigenden Dosen derart getan, daß damit voraussichtlich alle Werte von $L_0$ bis $L_+$ getroffen sind (im Frankfurter Institut z. B. 0,8—1,5 ccm). Nachdem dann die Einzelgemische mit physiologischer Kochsalzlösung auf 4,0 ccm aufgefüllt sind, bleiben die verkorkten Fläschchen 30 Minuten, vor Licht geschützt, bei

Zimmertemperatur stehen. Hierauf erhält, von 2 Reihen zu 8 Mäusen, jede Maus 0,4 ccm des betreffenden Gemisches unter die Haut des rechten Hinterbeins, also $^1/_{1000}$ A.E. + steigende Dosen Gift. Bei Richtigkeit des von der Fabrik angegebenen Titers müssen natürlich die Versuchsresultate in beiden Tierreihen genau übereinstimmen. Ist das Serum schwächer als angegeben, so verschieben sich die Resultate entsprechend. Erreicht der von der Kontrollbehörde eingestellte Titer den Mindestgehalt von 4 bzw. 40 A.E. in 1 ccm flüssigen bzw. in 1 g Trockenserum, so wird in Anbetracht der Kompliziertheit einer genauen Wertbemessung des Tetanusantitoxins das fragliche Serum nicht direkt zurückgewiesen, wie bei der Diphtherieheilserumprüfung, sondern zu dem neu ermittelten Titer zugelassen, es findet also in diesem Falle tatsächlich eine „Eichung" des Serums statt. Die Prüfung auf Unschädlichkeit findet in der gleichen Weise, wie beim Diphtherieheilserum beschrieben, statt. Die flüssigen Sera werden 2 Jahre, die festen 2 und 4 Jahre nach ihrer Zulassung durch die amtliche Prüfungsstelle einer Nachuntersuchung unterzogen. Nach 3 Jahren werden die ersteren durch Ministerialerlaß aus dem Handel gezogen; eine Einziehung des einmal zugelassenen festen Tetanusantitoxins findet nicht statt. Auch die Haltbarkeit des Tetanusserums ist unter den Verhältnissen der Praxis, wie die Untersuchungen von Boehncke (l. c. [20]) zeigten, eine durchaus befriedigende, indem bei 2 Jahre alten, ohne jegliche Vorsichtsmaßregeln aufbewahrten Seris in 68% sich noch der volle ursprüngliche Wertgehalt feststellen ließ und in weiteren 22% eine nur ganz minimale, praktisch völlig bedeutungslose, im fein reagierenden Tierversuch nur eben wahrnehmbare Abschwächung (fast 0, d. h. höchstens bis ½%) sich ergab. Lediglich 10% der untersuchten Sera zeigten eine deutliche, ca. 10%ige Abschwächung.

Ehrlich[31]) hatte nun zeigen können, daß das in der Tetanuskultur gebildete Gift zwei ganz verschiedenartige Komponenten enthält: das die tetanischen Erscheinungen hervorrufende Tetanospamin und außerdem ein viel labileres, hämolytisch wirkendes Toxin: das Tetanolysin. Beide Gifte haben verschiedene Bindungsverhältnisse, und für jedes der beiden Gifte konnte Ehrlich ein spezifisches Antitoxin feststellen. Die von Madsen[32 u. 33]) am Tetanolysin angestellten eingehenden Untersuchungen ergaben, daß diesem ein kompliziertes Neutralisationsbild zukommt, das eine große Übereinstimmung mit den von Ehrlich erwiesenen, oben geschilderten Neutralisationsvorgängen beim Diphtheriegift zeigte. Wie bei diesem, konnte auch beim Tetanolysin durch partielle Sättigung eine ganze Reihe von Bestandteilen ausgesondert werden, die eine verschiedene Wirksamkeit und Avidität besitzen. Sachs[34]) hat dann die Vorgänge der Tetanolysin-Antitoxinabsättigung genauer studiert und dabei die komplexe Konstitution des Giftes erwiesen. Seine Unter-

[31]) Berl. klin. Wochenschr., H. 12, S. 273, **1898** [*63*].
[32]) Zeitschr. f. Hyg., **XXXII**, 214, **1899** [*414*].
[33]) Zeitschr. f. Hyg., **XXXII**, 239, **1899** [*415*].
[34]) Berl. klin. Wochenschr., H. 16, **1904** [*543*]

suchung ergab für das Tetanolysin, ebenso wie diejenige von v. Dungern (l. c. [12]) für das Diphtheriegift, entgegen den Behauptungen von Arrhenius und Madsen, daß von einer einheitlichen Substanz, die sich mit dem Antitoxin nach dem Schema einer schwachen Base und einer schwachen Säure vereinigt, gar keine Rede sein konnte.

Was den Heilwert des Tetanusserums anbetrifft, so wurde diese Frage seinerzeit von Dönitz[35]) einer experimentellen Prüfung unterzogen. Danach tritt das Gift sofort an diejenigen Körpergewebe heran, in welchen es Substanzen von chemischer Affinität findet, d. s. die Zellen des Zentralnervensystems. Diese Verbindung kann — wie beim Diphtheriegift — durch Antitoxin noch gelöst bzw. gelockert werden, und zwar wächst die dazu nötige Menge proportional der Zeitdifferenz zwischen Toxin- und Antitoxineinverleibung. Die durch Antitoxin bewirkte Unschädlichmachung von Gift, welches schon an die Nervenzellen gebunden ist, muß als Heilung im strengsten Sinne des Wortes aufgefaßt werden. Ist ein gewisser Zeitpunkt überschritten und die Verfestigung der Toxinbindung eine unlösliche geworden, so vermögen selbst kolossale Antitoxinmengen den Zelltod nicht mehr zu inhibieren. Es hat auf Grund dieser Feststellungen schon damals Dönitz den Hauptwert des Tetanusserums in prophylaktischer Beziehung erwartet, da beim Ausbruch des Tetanus die Veränderungen lebenswichtiger Zellen in der Regel schon zu weit fortgeschritten sind und daher nur die Neutralisation der noch weiter produzierten Giftmenge und eine Sprengung der Giftverbindung in den Nervenzellen von therapeutischem Nutzen sein kann, wie sich dies ja — leider — auch meist nur bewahrheitete, wobei allerdings erwähnt werden muß, daß verschiedene Autoren in neuerer Zeit bei großen Dosen hochwertigen Serums und geeigneter Applikationsart auch ausgesprochene Heilwirkungen sehen konnten. Hervorgehoben sei, daß nach alledem sich wesentlich aus den Arbeiten des Ehrlichschen Institutes auch die wichtigen Forderungen ergaben, in der Praxis möglichst früh und mit möglichst hohen Serumdosen therapeutisch zu handeln.

---

Nach denselben Prinzipien, wie vorstehend für das Diphtherie- und Tetanusserum geschildert, vollzieht sich die Wertbestimmung auch bei den anderen antitoxischen Seris. Beim Botulismusantitoxin zeigt sich in der Mischung mit seinem Toxin die eigentümliche Erscheinung, daß nicht selten Bruchteile der Mischung sich bedeutend toxischer zeigen, als die ganze Mischung, so daß beispielsweise von einem bestimmten Toxin-Antitoxingemenge $^1/_1$ bis $^1/_{10}$ gar keine Symptome oder nur vor-

[35]) Deutsche med. Wochenschr., H. 27, **1897** [*334*].

übergehende Schlaffheit bewirken, dagegen $^1/_{20}$ bis $^1/_{80}$ den Tod in 5 bis 8 Tagen beim Versuchstier herbeiführen und endlich die höchsten Verdünnungen — $^1/_{100}$ bis $^1/_{200}$ — noch geringgradige Muskelschlaffheit zur Folge haben.

Otto und Sachs konnten diese von Madsen — und früher schon von v. Behring beim Tetanustoxin — gemachten Beobachtungen bestätigen (l. c. [11]) und gleichzeitig zeigen, daß dieses, augenscheinlich durch hydrolytische Dissoziation bedingte, Phänomen nach längerem Stehen der Gemische nahezu ganz schwindet. Sie erklären diese Erscheinungen ganz im Sinne Ehrlichs mit einem zweiphasigen Reaktionsverlauf, indem der zuerst lockeren Verbindung sehr bald das zweite, für alle Antikörperreaktionen charakteristische Stadium der sekundären Verfestigung folgt.

Wegen ihres theoretischen und historischen Interesses sei auch hier hingewiesen auf die Wertbemessung einiger antitoxischer Sera, deren Antigene pflanzlicher Natur sind: des Antiabrins, -ricins und -crotins, welche Ehrlich, wie bereits eingangs dieses Kapitels erwähnt, zu seinen grundlegenden Studien über den zahlenmäßigen Verlauf der Immunität, Immunitätssteigerung, Immunitätskurve, Vererbung der Immunität usw. dienten. Damit schließen wir mit der Wertbemessung der antitoxischen Sera und wenden uns im folgenden zur

### Wertbemessung der antibakteriellen Sera.

Es sind dies solche Sera, die nicht auf das Bakteriengift, sondern auf den Bakterienkörper selbst wirken.

Zur Prüfung derartiger antibakterieller Sera ist natürlich die Untersuchung auf antiinfektiöse Wirkung im Tierversuch von vornherein das idealste Verfahren. Aber für das Verständnis des Wirkungsmechanismus ist es von größter Bedeutung, die einzelnen Antikörperfunktionen gesondert zu analysieren. Im allgemeinen unterscheiden wir bei den Antikörpern der Bakterienzellen zwischen Agglutininen, komplementbindenden Stoffen, Bakteriotropinen und bakteriolytischen (bakteriziden) Antikörpern. Die Ehrlichschen Lehren haben zweifellos auf die Erkenntnis der Entstehung, Konstitution und Wirkung der Antisera ungemein befruchtend gewirkt, insbesondere durch die scharfe Formulierung der Bakterienantigene durch den Rezeptorbegriff, aus dem sich ohne weiteres die komplizierte Zusammensetzung des Rezeptorenapparates ergab. Maßgebend waren hierfür an erster Stelle die umfangreichen Studien Ehrlichs und Morgenroths[36]) über die hämolytischen Antikörper, welche einen Einblick in die Konstitution des Zellprotoplasmas und seine Antigenfunktionen er-

[36]) Berl. klin. Wochenschr., H. 1, **1899** [*192*]; H. 22, **1899** [*193*]; H. 21, **1900** [*194*]; H. 31, **1900** [*195*]; H. 10, **1901** [*196*]; H. 21 u. 22, **1901** [*197*].

öffneten. Aus der plurastischen Betrachtungsweise Ehrlichs, deren Berechtigung zunächst die Hämolysinforschung so mannigfach erwiesen hatte, folgte die Pluralität der Bakterienrezeptoren und das Verständnis heterologer Serumwirkungen. So verdankt einerseits die Serodiagnostik den Forschungen Ehrlichs vielfache Aufklärung durch die in der Rezeptorkonzeption gegebene Definition des Spezifitätsbegriffs, andererseits haben sich hieraus aber auch für die Bedingungen und Grenzen einer antibakteriellen Serumtherapie bedeutsame Momente der Erklärung ergeben. Was zunächst die Immunisierung anlangt, so führten die Untersuchungen Ehrlichs und Morgenroths zu dem Schluß, daß mit der Zelle kein einheitliches Material in den Organismus eingeführt wird, sondern eine Vielheit der verschiedenartigsten Rezeptoren, deren Zusammensetzung, insbesondere in quantitativer Hinsicht bei verschiedenen Proben derselben Art in weiten Grenzen variieren kann. Hieraus ergab sich für manche Formen der antibakteriellen Sera, daß es für den Wirkungsgrad des betreffenden Immunserums von Bedeutung ist, wenn es „polyvalent", d. h. durch ein Gemisch möglichst verschiedener Stämme erzeugt ist. Eine solche Polyvalenz wird erforderlich, wenn bei einer Infektionskrankheit — wie dies z. B. bei der Schweineseuche der Fall ist — die Bakterienstämme in ihrem Rezeptorenapparat zwar bestimmte dominante Rezeptoren besitzen, die einzelnen Stämme aber Partialrezeptoren aufweisen, die stark voneinander abweichen. In diesem Falle wird es notwendig, sogenannte „multipartiale" Sera zu gewinnen, d. h. Immunserum durch Vorbehandlung mit möglichst vielen untereinander differenten Stämmen derselben Bakterienart zu erzeugen. Das resultierende „multipartiale" Serum setzt sich dann aus einer weit größeren Anzahl verschiedener Partialteile zusammen, entsprechend den individuell verschiedenen Nebenrezeptoren, als ein nur mit einem Stamm gewonnenes „monovalentes" Serum, das seinerseits durch den hohen Gehalt an wenigen Partialambozeptoren ausgezeichnet sein kann, aber in bezug auf die Zahl der verschiedenen Partialantikörper sehr wenig breit ist.

Ein solch monovalentes Serum kann zwar nach Ostertag und Wassermann, wenn es zufällig einen homologen Stamm trifft, bereits in kleineren Dosen wirken, als ein multipartiales. Dieses letztere wird den einzelnen Stamm erst in höheren Konzentrationen beeinflussen, dafür aber in den verschiedensten Fällen seine schützende Wirkung entfalten. Das für die Prüfung solcher „multipartialer" Sera notwendige Wertbemessungsverfahren hat diesem Umstande durch Auswertung gegen eine bestimmte Infektion mit verschiedenen Bakterienstämmen Rechnung zu tragen, worauf wir später noch zurückkommen.

Weiterhin ist von Ehrlich und Morgenroth hervorgehoben worden, daß es wiederum wegen des vielfältig zusammengesetzten und variierenden

Rezeptorenapparates der Bakterien von Vorteil sein kann, verschiedene Tierarten gleichartig zu immunisieren. Da nämlich der zur Bildung von Antikörpern zur Verfügung stehende Apparat korrespondierender Rezeptoren bei einer Tierspezies nicht identisch ist mit demjenigen einer zweiten, kann sich im Einzelfall für die Praxis der Heilserumgewinnung im Interesse der Ausnutzung möglichst aller Rezeptorfunktionen der Bakterienzelle ein wichtiges Prinzip ergeben, indem man „eine Reihe verschiedener Tierarten immunisiert, die in ihren Immunkörpern differenten Sera auswählt und aus ihnen durch Mischung einen Heilstoff herstellt, der die verschiedenen Rezeptorentypen in möglichster Vollständigkeit enthält".

Was nun den Wirkungsmechanismus der antibakteriellen Sera anlangt, so kommen ja als eine wesentliche Antikörperfraktion die bakteriolytischen Immunkörper in Betracht. Abgesehen von der Forderung, daß ihre haptophoren (cytophilen) Gruppen den Bakterienrezeptoren entsprechen müssen, haben sich nun aus den Cytolysinstudien Ehrlichs, aus der Ambozeptortheorie, aus der Pluralität der Komplemente eine Reihe von Konsequenzen ergeben, welche für die therapeutische Wirkung der antibakteriellen Sera, wie auch für ihre Wertbemessung gleich bedeutsam sind.

Da wir, ohne auf die verschiedenen Möglichkeiten näher einzugehen, mit Ehrlich und Morgenroth (l. c. [36]) annehmen, daß bei der Schutzwirkung im Tierkörper die in erster Linie wirksamen Antikörper Ambozeptortypus haben, so wird der Erfolg der Schutzwirkung im Tierkörper von dem mehr oder weniger guten Zusammenwirken beider Komponenten, des Ambozeptors und des Komplements abhängen (vgl. Ehrlich[37]). Nun wissen wir, daß hier Störungen von beiden Seiten vorkommen können. Es kann, wie Neißer und Wechsberg[38]) gezeigt haben, zur „Komplementablenkung" kommen durch einen Überschuß der mit dem spezifischen Immunserum eingeführten Ambozeptoren, so daß dem betreffenden Individuum nicht nur kein Schutz verliehen, sondern sogar die Empfänglichkeit erhöht werden dürfte. Aber noch aus anderen Gründen kann die Schutzwirkung bakterizider Immunsera trotz der Anwesenheit von Komplementen in den Körpersäften nach Ehrlich[39]) ausbleiben, wenn nämlich die Komplemente nicht zu den eingeführten fremden Ambozeptoren passen und sie nicht zu einem vollen Bakteriolysin zu ergänzen vermögen. Dieser Fall ist um so eher möglich, wenn der Serumspender von dem behandelten Tier in der zoologischen Verwandtschaftsreihe sehr weit ab-

[37]) Koch-Festschrift, S. 509, **1903** [*79*].
[38]) Münch. med. Wochenschr., H. 18, **1901** [*490*].
[39]) Coronian Lecture Proceed. of the roy. soc., **LXVI**, 424 **1900**, [*70*].

steht. So fand z. B. Wechsberg[40]), daß der durch die Immunisierung von Tauben mit Vibrio Metschnikoff gewonnene Ambozeptor zwar mit Taubenserum komplettiert wird, dagegen nicht der durch Immunisierung von Kaninchen erhaltene.

Eine ähnliche Beobachtung machten Kolle und Otto. Ein bei Ratten und Mäusen hochwirksames, vom Pferde gewonnenes Pestserum versagte beim Meerschweinchen, dagegen war bei dieser Tierart das Serum immuner Meerschweinchen wirksam, trotzdem es bei Ratten und Mäusen keine nennenswerten schützenden Eigenschaften entfaltete.

Berücksichtigt man noch, daß bei der Immunisierung nur eine Steigerung der Ambozeptoren, aber nicht der Komplemente statthat, so versteht man besonders auf Grund der von Ehrlich entwickelten Anschauungen, daß der Wirkung bakteriolytischer Ambozeptoren in vivo gewisse Grenzen gezogen sein können. Schon Dönitz (l. c. [2]) hat daher darauf hingewiesen, wie wichtig gerade für die therapeutische Verwendung antibakterieller Sera das Auffinden ergiebiger Komplementquellen sein müßte, und Ehrlich (l. c. [39]) selbst hat bereits in der „Croonian Lecture" (1900) die hierfür maßgebenden Bedingungen scharf präzisiert. Allerdings sind die Schwierigkeiten der künstlichen Komplementzufuhr, wie Ehrlich und Morgenroth auseinandergesetzt haben, erhebliche. Denn abgesehen von den zahlreichen Möglichkeiten von Antikomplementwirkungen, welche bei Verwendung fremdartigen Serums bestehen, ist der Komplementgehalt der in Betracht kommenden Tiere ein relativ geringer, und seine Anreicherung ist nur in bescheidenen Grenzen möglich. So ist, wie Wechsberg[41]) zu den entsprechenden Versuchen Wassermanns bemerkt, die Injektion beträchtlicher frischer Serummengen erforderlich und nicht unbedenklich. Da zudem nicht einmal ohne weiteres gesagt ist, daß etwa künstlich zugeführte Komplemente auch für die zur Verwendung gelangenden bakteriziden Ambozeptoren passen, so empfehlen Ehrlich und Morgenroth (l. c. [36]) auch in dieser Hinsicht die Anwendung gemischter, von verschiedenen Tierarten gewonnener Immunsera, um durch die Vermehrung komplementophiler Ambozeptorgruppen die Komplemente des Organismus möglichst zahlreich in Aktion treten zu lassen. Von dem gleichen Gesichtspunkte aus hat Ehrlich (l. c. [39]) schon frühzeitig auf die Bedeutung der Auswahl passender Serumspender hingewiesen. Am besten wäre für die Verhältnisse der Humanmedizin diesem Postulat genügt mit Verwendung anthropogenen Serums oder wenigstens des Serums anthropoider Affen, wenn dem nicht unüberwindliche Schwierigkeiten in praxi entgegenständen. Eher genügt kann dagegen werden Ehrlichs

[40]) Wien. klin. Rundschau, H. 41, **1901** [*602*].
[41]) Zeitschr. f. Hyg., **XXXIX**, 171, **1902** [*603*].

Hypothese für die Wirksamkeit antibakterieller Sera, wonach die in ihnen vorhandenen Ambozeptoren in ausgiebiger Weise im menschlichen Serum selbstpassende Komplemente finden müssen, durch Vermischung von Immunseris, die von verschiedenen Tierspezies stammen. Infolge der komplizierten Weise des Zusammenwirkens von Ambozeptor und Komplement wird man auch bei den in der Veterinärmedizin verwendeten Seris diesen Verhältnissen Rechnung tragen müssen, die auch in der Prüfungstechnik nicht selten Schwierigkeiten bedingen. Es resultiert hier zunächst die Aufgabe, geeignetes Tiermaterial zu finden, welches das von einer Tierart (zumeist wohl Pferden) gewonnene, in der Praxis bei irgendeiner anderen Tierart zur Verwendung bestimmte Immunserum genügend gleichmäßig komplettiert, wofür ein Paradigma das Rotlaufserum bietet: von Pferden gewonnen, an der Maus geprüft, wird es beim Schwein angewandt.

Durch die erörterten Momente ergeben sich bei der Prüfung auf antiinfektiöse Wirkung im Tierversuch naturgemäß eine Reihe von Schwierigkeiten. Es unterliegt keinem Zweifel, daß die mit zahlreichen antiinfektiösen Seris beobachteten Mißerfolge nicht auf der Art der Antikörper, sondern auf bisher nicht überwundenen, durch die qualitativen und Verteilungsverhältnisse gegebenen Schwierigkeiten beruhen. Sollte es gelingen, durch deren Beseitigung bessere serumtherapeutische Erfolge zu erzielen, so wird damit auch der Prüfungstechnik der Weg gewiesen sein.

Andererseits besteht bei der Prüfung auf Antikörpergehalt durch die Reagenzglasmethode die Frage, ob das, was man mißt, wirklich für den Heilwert der Sera von Bedeutung ist. Man kann allerdings, abgesehen vom Pfeifferschen Versuch, die bakterizide Wirkung auch direkt in vitro bestimmen. Unter den verschiedenen hierfür ausgearbeiteten Verfahren ist die „Plattenmethode" von Neißer und Wechsberg (l. c. [38] und [43]) am meisten vervollkommnet, hat jedoch für prüfungstechnische Zwecke nur untergeordnete Bedeutung. Auch das ursprünglich von Bordet und Gengou angegebene Komplementbindungsverfahren, das sich als solches seit den Untersuchungen von Neißer und Sachs[42]) über Eiweißdifferenzierung vielfach bewährt hat, führt, wie Neißer[43]) schon früher gefunden hat, oft nicht zum Ziele, ist aber in anderen Fällen, so beim Meningokokkenserum zur Ermittlung des Gehaltes an komplement bindenden Antikörpern geeignet. Die Frage ist nur, ob hierdurch ein Maßstab für den Heilwert in vivo gewonnen wird. Weniger groß sind die Bedenken in dieser Hinsicht bei der von Neufeld angegebenen Methode

[42]) Berl. klin. Wochenschr., H. 44, **1905** [*483*], H. 3, **1906** [*484*].

[43]) Ehrlichs Gesammelte Arbeiten zur Immunitätsforsch., S. 493, **1904** [*469*].

zur Bewertung der bakteriotropen Stoffe in vitro da es sich hier um einen Mechanismus handelt, der sicherlich auch in vivo eine Rolle spielt. Allerdings deuten ja vielfache Erfahrungen darauf hin, daß oft bei der Immunisierung die verschiedenen Antikörperqualitäten parallel ansteigen. Da wir aber im Reagenzglasversuch jedenfalls im ungewissen sind, ob wir wirklich auch alle Stoffe berücksichtigen, welche bei der Schutz- und Heilwirkung in vivo eine Rolle spielen, so bevorzugen wir es nach Möglichkeit, in der amtlichen Prüfungstechnik die Entscheidung über die antiinfektiöse Wirksamkeit eines Serums im Tierversuch zu fällen, da hier alle Faktoren, welche die Bakterien bekämpfen und vernichten, in Aktion treten und gleichzeitig zur Wirkung gelangen, während bei den Reagenzglasversuchen eine bestimmte, vielleicht gerade wichtige Quote ungemessen bleiben kann. Zudem wissen wir aus den Erfahrungen der Praxis, daß es eine Reihe von antiinfektiösen Seris gibt, die trotz schwankendem Gehalt an dem einen oder anderen Immunkörper sich praktisch bewähren und sich im Tierversuch genau quantitativ bewerten lassen, wenn man der Wertbemessung die Schutzimpfung mit Serum gegen eine gleichzeitige oder nachfolgende Allgemeininfektion mit lebenden Infektionserregern zugrunde legt.

Von besonderer Bedeutung für die Beurteilung der Prüfungsmethoden ist dabei die Feststellung, ob der im Prüfungsversuch ermittelte Gehalt an spezifischen Immunkörpern mit dem praktischen Heilwert des Serums parallel geht. Handelt es sich um ein in der Praxis wirksames Immunserum, so wird sich mit der Zeit leicht ein Urteil darüber fällen lassen, ob der Tierversuch (und schließlich auch jede andere quantitativ genau arbeitende Methode) brauchbare Resultate erwarten läßt.

Zu den Nachteilen des Schutzversuches gehört z. B., daß nur von einer beschränkten Anzahl der menschlichen Infektionskrankheiten die Infektion auf Tiere übertragbar ist.

Eine andere praktische Schwierigkeit bei der Prüfung der antibakteriellen Sera im Tierversuch bedeutet die Verwendung lebender Kulturen. Abgesehen von der Art der Infektion und der Serumapplikation ist die richtige Wahl der Infektionsdosis vielfach von größter Bedeutung. Es hat sich gezeigt, daß das Gesetz der Multipla hier keine Gültigkeit hat.

Störend wirkt ferner beim Prüfungsversuch gegen die Infektion mit lebenden Erregern oft die schwankende Virulenz der Kulturen. Selbst wenn man sorgfältig bemüht ist, durch regelmäßige Überimpfung und durch Tierpassagen eine möglichst gleichmäßige Virulenz der Bakterienstämme zu erzielen, so wird man doch immer wieder auf große Schwankungen stoßen. Bei den amtlichen Prüfungen im Frankfurter Institut hat sich dabei die sehr wichtige Tatsache ergeben, daß eine Prüfungskultur, ohne an ihrer pathogenen Wirkung zu verlieren, in ihrer Resistenz gegenüber dem Schutzserum nachlassen kann. Während z. B. die Kontrolltiere nach wie vor prompt durch $^1/_{100}$ ccm der Bazillentestkultur getötet wurden, schützte 0,01 ccm Standard-

serum nicht mehr gegen die Infektionsdosis, sondern plötzlich schon 0,001 ccm Serum, eine Serummenge, welche ursprünglich wirkungslos war. Die Resistenz der Kultur gegen das Immunserum hat sich also geändert, und diese Änderung der Resistenz erwies sich als ein viel feineres Reagens auf die beginnende Virulenzabschwächung der Prüfungskultur, als der Termin des Todeseintritts nach einer bestimmten Infektion. Die aus dieser Tatsache entstehenden Schwierigkeiten lassen sich nun aber leicht umgehen, wenn zur Serumprüfung der Vergleich mit einem Standardserum benutzt wird (P. Ehrlich l. c.[36]). Es müssen dazu zwei Versuchsreihen angestellt werden; die erste mit dem Standardserum, sie gibt an, welche Serumdosis gegen die vorliegende Infektion noch schützt; die zweite mit dem zu prüfenden Serum, sie gestattet im Vergleich mit der ersten einen genauen Rückschluß auf den Wert des betreffenden Serums. Als Wertgehalt der bakteriziden Sera bestimmen wir nur ihren Schutzgehalt, da bei fast allen eine eigentliche kurative Wirkung experimentell sich kaum feststellen läßt. Auch hier drücken wir den Wirkungswert in I.E. aus und zwar hat sich in der staatlichen Kontrolle der Usus eingebürgert, ein Serum, das in der Dosis von $^1/_{100}$ ccm gegen die nachfolgende tödliche Dosis lebender Bakterien schützt*), kurz als 100fach zu bezeichnen. Von besonderer Wichtigkeit ist der Besitz einer Tierspezies, welche für die bei den Prüfungsversuchen anzuwendenden Bakterien von genügend gleichmäßiger Empfänglichkeit bzw. Resistenz ist, vorausgesetzt natürlich, daß es sich um die Prüfung von Immunseris gegen nicht nur menschenpathogene, sondern gleichzeitig — wenn auch nur mäßig — tierpathogene Bakterien handelt.

Als Prüfungstiere par excellence für die antibakteriellen Sera haben sich die weißen Mäuse gezeigt. Alle der staatlichen Prüfung unterliegenden antibakteriellen Sera, wie das Antistreptokokkenserum, das Rotlaufserum, das Geflügelcholera- und das Schweineseucheserum werden an ihnen geprüft. Stets wird zuerst eine Versuchsreihe mit dem Standardserum in fallenden Mengen gegen eine stets gleichbleibende Kulturdosis angelegt und zweitens ein Parallelversuch mit dem zu prüfenden Serum. Aus dem Vergleich der Resultate beider Versuchsreihen ergibt sich ohne weiteres, ob das zu prüfende Serum die Wirksamkeit des Standardserums erreicht und damit vollwertig ist oder aber in seiner Wirksamkeit sich als schwächer und damit minderwertig zeigt. Da wir, wie bereits gesagt, nur den Schutzwert feststellen, so wird zuerst das Serum und erst eine Weile, meist eine Stunde später, beim Schweineseuche- und Geflügelcholeraserum, sowie dem Streptokokkenserum sogar erst 24 Stunden später die Kulturdosis den Versuchstieren einverleibt.

Die Kontrolle all dieser antibakteriellen Sera ist, wie das aus ihrer zurzeit noch viel umstrittenen wirklichen Wertigkeit ohnehin resultiert, für die Fabrikanten bis auf weiteres keine obligatorische, sondern vorläufig eine fakultative, mit dem Endzweck, den Ärzten bzw. Tierärzten bei diesen, zum Teil noch in der Erprobung begriffenen Seris wenigstens

*) Ursprünglich „Normalserum" d. h. 1 ccm dieses Serums = 1 I.E.

völlig unschädliche und möglichst gleichmäßige Präparate in die Hand zu geben.

Lassen die vorstehenden Bemerkungen eine Wertbemessung der antibakteriellen Sera im Tierversuch auch ohne weiteres als sehr wünschenswert erscheinen, so ist eine solche Prüfung der Schutzwirkung gegen die nachfolgende Infektion bisher doch nur bei einer beschränkten Anzahl der Sera möglich und üblich. Es sind dies beispielsweise das Rotlauf-, das Geflügelcholera- und die Schweineseuchesera, ferner das Strepto- und Pneumokokkenserum, sowie das Pestserum. Bei anderen, z. B. dem Dysenterie-, dem Typhus- und Choleraserum ist anscheinend die Wirkung keine rein antibakterielle (antiinfektiöse), sondern zugleich eine mehr oder minder antitoxische bzw. antiendotoxische, weshalb natürlich die betreffenden Wertbestimmungsmethoden die Ermittlung auch dieser speziellen Antikörper noch besonders berücksichtigen. Weiter beim Meningokokkenserum, das anerkanntermaßen seine Heilwirkung in vivo in erster Linie dem Gehalt an Bakteriotropinen verdankt, ist für seine Schutzkörpertitrierung der Umstand ausschlaggebend geblieben, daß geeignete Versuchstiere zu Infektionsversuchen nicht zur Verfügung standen. Beim Milzbrandserum endlich, das sich in der Praxis zweifellos bewährt hat, ist es trotz zahlreicher Versuche bisher nicht gelungen, eine sicher und quantitativ arbeitende Wertbemessungsmethode zu ermitteln.

Für die Wertbemessung des Rotlaufserums kommen als Versuchstiere in Betracht das Schwein, das Kaninchen, die Taube und die Maus, und zwar sowohl die graue Hausmaus wie die weiße Laboratoriumsmaus. Bei der staatlichen Prüfung der Rotlaufsera in Frankfurt a. M. geschah die Ausführung derselben ursprünglich so, daß eine immer gleichbleibende Menge Bouillonkultur gemischt mit fallenden Mengen Serum einer Reihe von Mäusen subkutan einverleibt wurde. Diejenigen Mäuse, welche nach 10 Tagen noch gesund waren, wurden als maßgebend angesehen und nach der zu diesem Schutz nötig gewesenen Serummenge der Wert des Serums bezeichnet. Da bei dieser Methodik trotz größter Sorgfalt in der Ausführung der Prüfung nicht immer gleichmäßige Prüfungsreihen erzielt werden konnten, so suchte Marx[44]) dem Übelstande durch eine Verbesserung der Methode abzuhelfen. Es ergab sich ihm als Ursache der Störungen die mangelhafte und langsame Komplettierung des Rotlaufserums durch den Organismus der Maus. Ehe das mit der Kultur gemischt injizierte Serum im Körper aktiviert wurde, vergingen anscheinend mehrere Stunden, währenddessen die Bakterien reichlich Zeit zur Vermehrung im Tierkörper gefunden hatten. Das später aktivierte Serum fand dann, den individuellen Verhältnissen entsprechend, durchaus verschiedene Mengen Kultur vor, wodurch, wie anzunehmen war, die störenden Unregelmäßigkeiten entstanden. Marx versuchte nun zunächst das in-

[44]) Deutsche tierärztliche Wochenschr., H. 6, **1901** [*431*].

aktive Rotlaufserum durch natives komplementhaltiges Serum zu aktivieren, was aber nicht gelang. Er änderte dann die bisherige Prüfungsmethode derart, daß den grauen Mäusen zuerst subkutan das Serum und 24 Stunden später die Kulturdosis einverleibt wurde, und zwar intraperitoneal, damit „die Bakterien in einer Weise dem Tier zugeführt werden, daß sie der Wirkung des Immunkörpers sofort unterliegen und eine Wucherung ausgeschlossen wird". Später wählte man anstatt der grauen, weiße Mäuse, weil bei ihnen die Infektion bereits eine Stunde nach der Seruminjektion geschehen kann, sie also anscheinend das Immunserum schneller aktivieren wie die grauen Mäuse. Die amtliche Ausführung der Rotlaufserumprüfung, deren obligatorische Einführung für alle Rotlaufsera zu erwarten ist, gestaltet sich nach der Marxschen Methode folgendermaßen:

Es werden zwei Prüfungsreihen angesetzt, eine mit Standardserum — das bei jeder Prüfung stets frisch gelöst wird — und eine zweite mit dem zu prüfenden Rotlaufserum, wobei sich der Grad der Verdünnung nach den Angaben der Fabrik richtet. Das Standardserum ist in der für jede Prüfung nötigen Menge von 0,6 ccm (= 0,06 Trockenserum) in Ehrlichschen Vakuumtrockenapparaten eingeschlossen und hat den konventionell angenommenen Wert von 100 IE in 1 ccm, d.h. Schutzwert in der Dosis von 0,01 gegen die nachfolgende tödliche Dosis lebender Kultur. In der Regel schützt 0,015 ccm dieses Standardserums gegen die folgende Infektion mit der Prüfungsdosis (= $^1/_{100}$ ccm einer virulenten 24stündigen Bouillonkultur). Um alle Übergänge von $L_0$ bis $L_+$ in den Versuchsreihen vorzufinden, werden daher Verdünnungen des Standardserums entsprechend den Mengen von 0,005—0,03 ccm angewandt. Ist der Titer des zu prüfenden Serums ebenfalls als 100fach*) angegeben, so hat man dementsprechend mit den gleichen Dosen und Verdünnungen zu arbeiten. Mit jeder Serumdosis werden zwei weiße Mäuse subkutan injiziert. Nach 1 Stunde folgt zugleich mit der Infektion von zwei Kontrollen die intraperitoneale Infektion der Tiere mit $^1/_{100}$ ccm 24stündiger Bouillonkultur (in praxi 0,3 ccm der Verdünnung $^1/_{30}$).

Verlaufen die Versuchsreihen regelmäßig, so müssen die Kontrollen in $2 \times 24$ Stunden, spätestens in $3 \times 24$ Stunden sterben. Außerdem müssen von den mit Standardserum behandelten Tieren diejenigen bis 0,01 ccm mit einer Verzögerung von einigen Tagen eingehen, während alle anderen Tiere davonkommen sollen, und zwar zeigen in der Regel die Tiere mit 0,015 ccm noch deutliche, die mit 0,02 ccm kaum noch Krankheitserscheinungen. Die eingegangenen Tiere werden seziert, um interkurrente Krankheiten als Todesursache auszuschließen.

Die Beobachtung der Versuchstiere wird 8 Tage lang fortgeführt, der Prüfungsabschluß findet demnach am 9. Tage statt. Entspricht in dem oben angegebenen Fall z. B. das 100fache Serum seinem Titre, so muß die zweite Versuchsreihe einen der ersten Reihe vollständig parallelen Versuchsverlauf

*) Bestimmungsgemäß müssen alle Rotlaufsera in Deutschland 100fach sein.

zeigen. Sterben von dieser Reihe noch die Tiere mit 0,015 ccm, so ist das Serum als nicht vollwertig zu betrachten.

Zur Wertbemessung des Geflügelcholeraserums eignen sich einerseits Kaninchen, Mäuse usw., sowie andererseits — wenn auch wohl weniger — Hühner, Enten und Tauben. Um stets eine genau dosierte Infektionsmenge zu haben, empfiehlt sich gegenüber der Infektion durch Fütterung die durch Injektion bestimmter Mengen lebender Kultur.

Das von den Höchster Farbwerken unter der Bezeichnung Galloserin in den Handel gebrachte Serum wird im Vergleich zu einem Standardserum im Frankfurter Institut provisorisch in der Weise geprüft, daß weißen Mäusen steigende Dosen Serums (0,005—0,0075—0,01—0,015—0,02—0,03) subkutan injiziert werden und die Tiere 24 Stunden später (zusammen mit 2 Kontrollen) durch $^1/_{100}$ ccm einer virulenten Hühnercholerakultur intraperitoneal infiziert werden. Die Beobachtungsdauer beträgt 10 Tage.

Der ebenfalls provisorischen staatlichen Prüfung unterliegt ferner das Schweineseucheserum. Es wird solches unter der Bezeichnung „Suisepsin" von den Höchster Farbwerken als ein monovalentes Serum in den Handel gebracht. Auch nach seiner Prüfungsart ist es als monovalent zu bezeichnen, da hierbei nämlich die Infektion nur mit einem Stamme ausgeführt wird. Die Anordnung des Prüfungsversuchs enthält wiederum Kontrollreihen mit dem Standardserum.

Zur Infektion wird $^1/_{100}$ ccm einer virulenten 24stündigen Bouillonkultur verwendet, eine Dosis, welche die Kontrollen in spätestens 2—3 Tagen tötet. Die Beobachtungsdauer beträgt 10 Tage.

Das früher ebenfalls staatlich kontrollierte Wassermann-Ostertagsche sogenannte polyvalente Schweineseucheserum (der Firma Gans in Oberursel) mußte seine Schutzwirkung im Vergleich mit einem Standardserum gegen ein Gemisch von 8 verschiedenen Kulturen bei sonst gleicher Prüfungsanordnung wie oben erweisen. Wir bemerken dabei, daß wir im prüfungstechnischen Sinne als polyvalent solche Sera bezeichnen, die im Prüfungsversuch gegen die verschiedensten Stämme derselben Bakterienart schützen. Dabei ist es im Grunde gleichgültig, wie diese Sera gewonnen werden. Für den Fall, daß jemand zur Immunisierung einen besonders geeigneten Stamm wählt, dessen Rezeptorenapparat besonders günstig gebaut ist, kann er unter Umständen auch so ein polyvalentes Serum gewinnen. In der Regel werden aber, wie das den Forschungen Ehrlichs entspricht, an erster Stelle „multipartiale" Sera „polyvalent" wirksam sein. Soll ein Serum prüfungstechnisch als „polyvalent" gelten, so muß es dementsprechend auch gegen verschiedene Stämme geprüft werden (vgl. Otto, l. c. [14]).

Die Wertbemessung der verschiedenen Antistreptokokkensera geschieht an weißen Mäusen. Von den in Deutschland nach Menzer, nach Meyer und Ruppel, sowie nach Aronson hergestellten Seris wird das letztgenannte, in der Scheringschen Fabrik in Berlin erzeugte Antistreptokokkenserum der (provisorischen) staatlichen Kontrolle unterzogen. Aronson prüft nach seinen Ausführungen in der Berliner klin. Wochenschrift 1902 (Nr. 42 und 43) sowie in der Deutschen med. Wochenschrift 1903 (Nr. 25) die Wertigkeit seines Serums mittels eines für Mäuse hochvirulent gemachten Stammes.

Als Normalserum bezeichnet er ein Serum, von dem 0,01 ccm eine Maus gegen die 10—100fach tödliche Dosis schützt. 1 ccm dieses Serums enthält 1 I.E. Aronson verwendete zur Immunisierung der Pferde durch Tierpassagen hochvirulent gemachte Streptokokkenkulturen und außerdem direkt vom Menschen stammende gleichzeitig (ohne Tierpassage) für Tiere virulente Stämme, so daß demnach beide wirksamen Quoten im Tierversuch zur Bewertung gelangen konnten. Er prüft sein Serum an weißen Mäusen, denen das Serum in fallenden Dosen subkutan und 24 Stunden später die 10- bis 100fache sicher letale Kulturdosis intraperitoneal gegeben wird.

Unter Zugrundelegung dieser Methode geschieht die amtliche Wertbemessung, wobei als Maßstab ein Standardserum mit dem konventionell angenommenen Titer von 20 I.E. dient, und zwar in folgender Weise:

Zur Wertprüfung werden 4 Parallelreihen mit fallenden Dosen Serum von 1:500 bis 1:6000 (subkutan injiziert) angesetzt. Reihen 1 und 3 werden vorbehandelt mit dem Standardserum, Reihen 2 und 4 mit dem zu prüfenden Serum. 24 Stunden später wird in den ersten beiden Parallelreihen (1 und 2) die Infektion mit je 1 ccm der Verdünnung $^1/_{100000}$, in den beiden anderen Reihen von $^1/_{10000}$ intraperitoneal vorgenommen und zwar von einer Kultur, die noch in der Verdünnung 1:1000000 weiße Mäuse akut innerhalb 24 bis 48 Stunden tötet. Die Ausführung von zwei Doppelreihen ist einmal nötig, weil sich gezeigt hat, daß die Wirkung der Streptokokkensera bei der Anwendung verschieden starker Infektionen oft eine verschiedene ist, und daher sich eine genaue Wertbemessung meist nur bei einer bestimmten Infektionsdosis ausführen läßt, und andererseits, weil die Kulturen häufig starke Virulenzschwankungen aufweisen.

Wie die nunmehr zahlreich ausgeführten Prüfungsversuche im Frankfurter Institut ergeben haben, läßt sich nach der von Aronson ausgearbeiteten Methode in der Tat die Wertbemessung eines Antistreptokokkenserums mit genügender Genauigkeit durchführen.

Nach ähnlichen Grundsätzen geschah die Prüfung des nach Römers Angaben in der Merckschen Fabrik in Darmstadt hergestellten Antipneumokokkenserums, das der provisorischen staatlichen Kontrolle unterstellt wurde, nachdem es Landmann gelungen war, seinen Wirkungswert ziffernmäßig auszudrücken.

Es wurde ein Serum, von dem 0,01 ccm eine Maus gegen die 24 Stunden

danach injizierte 10—100fache tödliche Dosis lebender Kultur schützte, als ein einfaches oder normales Serum bezeichnet, welches in 1 ccm 1 I.E. enthielt. Die Prüfung geschah unter Zugrundelegung eines Standardserums an weißen Mäusen, denen das Serum in fallenden Mengen (1:500, 1:600) subkutan und die Prüfungskultur 24 Stunden später intraperitoneal in der 10fach, 100fach und 1000fach tödlichen Dosis injiziert wurde. Da es sich in praxi äußerst schwierig erwies, die Prüfungskultur in einer bestimmten unveränderlichen Virulenz zu erhalten, so hörte die staatliche Kontrolle des Merckschen Pneumokokkenserums bald wieder auf.

Neuerdings konnten Boehncke und Mouriz[45]) — in Übereinstimmung mit anderen Autoren — bei ihren Untersuchungen an verschiedenen Pneumokokkenseris zeigen, daß ein beträchtlicher Anteil an der spezifischen Wirkung des Serums im Tierversuch seinem in vitro nachzuweisenden Gehalt an Bakteriotropinen zuzumessen sein dürfte. Weiter fanden Boehncke und Mouriz-Riesgo[46]), daß im ganzen überhaupt ein gewisser Parallelismus zwischen dem Gehalt an in vitro nachzuweisenden Antistoffen eines Pneumokokkenserums und dem Grad seiner Schutzwirkung in vivo unverkennbar ist, wovon aber die komplementbindenden Stoffe auszunehmen zu sein scheinen. Was die für die therapeutische Wirksamkeit so wichtige Frage der Polyvalenz anbetrifft, so zeigte nach diesen Autoren keines der untersuchten Pneumokokkensera eine ausgesprochene Polyvalenz, was das nicht so seltene Versagen der Serumtherapie bei der Pneumonie erklären würde und andererseits das Postulat rechtfertigt, diesem Punkte bei der Wertbemessung des Pneumokokkenserums in Zukunft die größte Aufmerksamkeit zu schenken. Eine Verstärkung der Serumwirkung wird, wie sich in Versuchen Boehnckes[47]) in Übereinstimmung mit anderen Autoren ergab, durch Kombination mit Äthylhydrokuprein erreicht.

Die Haltbarkeit des Pneumokokkenserums ist nach Boehncke und Mouriz-Riesgo auch unter den Verhältnissen der Praxis eine durchaus genügende. Es zeigten sich bei einer Aufbewahrung ohne besondere Vorsichtsmaßregeln in flüssigen, 4—4½ Jahre alten Seris die Bakteriotropine in vitro als relativ stabile, die Agglutinine dagegen als sehr labile Stoffe. Da die Wirksamkeit dieser Sera in vivo (im Schutzversuch) nur um $^1/_8$ bis höchstens ¼ der ursprünglichen verringert schien, so dürfte sich ohne weiteres ergeben, daß aus dem Gehalt an Agglutininen keinerlei Schlüsse auf die Wirksamkeit eines Pneumokokkenserums in vivo gestattet sind, wohl aber aus dem bereits in vitro nachgewiesenen Gehalt an Bakteriotropinen.

Die Wertbestimmung des Antidysenterieserums, das nach

[45]) Boletin del Instituto nacional de Hygiene, Madrid, Jg. **IX**, Nr. 33, **1913** [*317*].
[46]) Arb. a. d. Kgl. Institut f. exp. Therapie, H. 5, S. 45, **1913** [*316*].
[47]) Münch. med. Wochenschr., H. 8, **1913** [*309*].

Shigas[48]) Angaben früher im Pharmazeutischen Institut von L. W. Gans als antibakterielles Serum hergestellt wurde und der (provisorischen) staatlichen Kontrolle im Frankfurter Institut unterstellt war, erfolgte nach den vorgeschilderten Prinzipien ebenfalls an weißen Mäusen.

Später hat Shiga das Prüfungsverfahren seines multivalenten (durch kombinierte Immunisierung mit 5 Typen des Dysenteriebazillus gewonnenen) Dysenterieserums in folgender, von Otto und Boehncke geschilderten Weise präzisiert: 5fach tödliche Dosen der Dysenteriebazillenkulturen werden mit absteigenden Serummengen versetzt und dann Mäusen intraperitoneal injiziert. Die Dosis letalis minima für eine Maus von 12—14 g beträgt ca. 0,08 mg virulenter Dysenteriekultur. Die Erhaltung der Virulenz der frisch isolierten Stammkultur gelingt gut im Eisschrank. Von der 24stündigen Agarkultur wird mit einer genau gemessenen besonderen Platinöse eine bestimmte Menge herausgenommen und in einer bestimmten Menge Kochsalzlösung aufgeschwemmt, so daß in 1,0 ccm genau 2,0 mg Kultur enthalten ist. Das Immunserum wird in folgenden Mengen in Reagenzgläschen gefüllt: 0,5, 0,25, 0,1, 0,025, 0,01 und 0,005 ccm. Alle Röhrchen werden mit physiologischer Kochsalzlösung auf 1 ccm aufgefüllt. Dazu kommt je 1 ccm Bazillenemulsion. Je 2 (12—14 g) schweren weißen Mäusen wird von dieser Mischung 0,4 ccm intraperitoneal injiziert. Das Resultat wird nach 24 Stunden beurteilt. Erwähnt muß hierbei noch werden, daß in neuerer Zeit von zahlreichen Autoren außerdem eine Feststellung der antitoxischen Wirksamkeit dieses Serums (ähnlich der Prüfung des Diphtherieserums, hier jedoch an Kaninchen) für notwendig erachtet wird.

Die Wertbemessung des Typhusserums ist bei seiner zurzeit noch sehr umstrittenen therapeutischen Wirksamkeit nur von untergeordneter Bedeutung. Vielfach wird hier noch der Agglutinationstiter des Serums und daneben die Feststellung der bakteriziden Kraft in vitro nach Neißer und Wechsberg (l. c. [38]) als Maßstab verwendet. Beider Methoden bediente sich auch mit Vorteil Shiga[49]) zur Titrierung der spezifischen Antikörper im Serum von Personen, die mit den sogenannten „freien Rezeptoren" von Typhuskulturen nach Neißer und Shiga[50]) aktiv gegen Typhus immunisiert waren.

Die Wertbemessung des Meningokokkenserums ist bei der nunmehr wohl allseits anerkannten therapeutischen Wirksamkeit dieses Serums von besonderer Wichtigkeit. Es ist deshalb beabsichtigt, dasselbe der amtlichen Prüfungskontrolle zu unterstellen, die sich ja beim Diphtherie- und Tetanusserum von größtem Nutzen erwiesen hat. Allerdings sind die Bedingungen für die Wertprüfung des Meningokokken-

[48]) Zeitschr. f. Hyg., **XLI**, 355, **1902** [*582*].
[49]) Berl. klin. Wochenschr., H. 4, **1904** [*584*].
[50]) Deutsche med. Wochenschr., H. 4, **1903** [*487*].

serums insofern weniger durchsichtig, als der beim Diphtherie- und Tetanusserum eingeschlagene Weg, den Schutz- oder Heilwert des therapeutischen Prinzips direkt im Tierversuch festzustellen, bei diesem Serum vorläufig nicht mit genügender Prägnanz gangbar ist. Wir sind vielmehr bisher darauf angewiesen, die spezifischen Immunkörper lediglich in vitro nachzuweisen, da die Prüfung im Tierversuch nach den zahlreiche anderweitige Versuche bestätigenden Untersuchungen von Boehncke[51]) mit genügender Sicherheit nicht möglich erscheint. Zum Nachweis der bei der Immunisierung entstandenen verschiedenen Antikörpertypen im Reagenzglas stand zur Verfügung die Agglutination und die Bakterizidie oder Bakteriolyse, ferner die Komplementbindung und endlich die Bakteriotropie. Was die Agglutinine anlangt, so haben, abgesehen von der allgemein anerkannten Tatsache, daß die Komplementbindungsmethode bei Meningokokken der Agglutinationsmethode überlegen ist, die Untersuchungen Boehnckes im besonderen ergeben, daß beim Lagern die agglutinierenden Antikörper im Gegensatz zu den noch vorhandenen bakteriotropen und komplementbindenden Immunstoffen ziemlich rasch abnehmen können. Nennenswerte bakterizide oder bakteriolytische Eigenschaften läßt das Meningokokkenserum in vitro nicht erkennen, dagegen erscheint die Komplementbindungsmethode, die von Kolle und Wassermann zur Wertbemessung des Meningokokkenserums in erster Linie herangezogen war, nach den Resultaten zahlreicher Nachuntersucher zur Erzielung vergleichbarer Werte und gleichmäßiger Resultate sehr gut geeignet zu sein. Für die Zwecke der amtlichen Prüfung kam es dabei in erster Linie darauf an, die Frage zu entscheiden, ob eine Standardisierung des Prüfungsmaterials, d. h. eine Konstanterhaltung von Immunserum und Antigen unter allen Umständen möglich ist. Dies kann nach den Untersuchungen Boehnckes bejaht werden, so daß die Wertbemessung des Meningokokkenserums mittels Komplementbindung auch ein für die staatliche Prüfung ausreichendes Verfahren darstellt. Da es jedoch zurzeit noch ungewiß erscheint, inwieweit die durch Komplementbindung bestimmbaren Antikörper ein direktes Maß für die Schutz- und Heilwirkung des Meningokokkenserums abgeben, so hat Boehncke (in Übereinstimmung mit anderen Autoren) die gleichzeitige Heranziehung eines zweiten Verfahrens, nämlich des von Neufeld vorgeschlagenen bakteriotropen Reagenzglasversuchs empfohlen. Mit bestimmten Modifikationen der ursprünglichen Versuchstechnik ist es Boehncke[52]) gelungen, hinreichend genaue und sichere Vergleichswerte mit der bakteriotropen Reagenzglasmethode zu erzielen.

[51]) Arbeit. a. d. Kgl. Institut f. exper. Therapie, H. 5, S. 15, **1913** [*313*].
[52]) Centralbl. f. Bakt., **LXVII**, 586, **1913** [*311*].

Von besonderer Wichtigkeit war die Entscheidung der Frage, ob sich bestimmte Beziehungen zwischen den komplementbindenden und bakteriotropen Antikörpern im Meningokokkenserum nachweisen lassen. Nach den vorerwähnten Untersuchungen (l. c. [50]), die auch mit den Angaben anderer Autoren übereinstimmen, scheint wohl im allgemeinen ein solcher Parallelismus zu bestehen.

Da die Bestimmung der bakteriotropen Stoffe fast ebenso genaue und gleichmäßige Resultate bei der Wertbemessung des Meningokokkenserums zu garantieren geeignet scheint, wie die Titrierung der komplementbindenden Antikörper, und da diese Methode ganz besonders Werte zu ermitteln gestattet, die mit der Heilwirkung des Meningokokkenserums offenbar in einem direkten Zusammenhang stehen, so hat Boehncke vorgeschlagen, die Methodik des bakteriotropen Reagenzglasversuchs an erster Stelle für die Wertbemessung des Meningokokkenserums zu verwenden, daneben aber das zur Wertbemessung ebenfalls sehr geeignete Komplementbindungsverfahren zu benutzen. Außerdem wird natürlich, wie bei den übrigen staatlich kontrollierten und in der Humanmedizin verwendeten Seris eine Prüfung des Meningokokkenserums auf Keimfreiheit, sowie auf Karbol- und Eiweißgehalt vorzunehmen sein.

War beim Genickstarreserum die Unmöglichkeit der Wertprüfung im Tierversuch bedingt durch die Apathogenität der Meningokokken für unsere gebräuchlichen Laboratoriumstiere, so haben wir es bei der Wertbemessung des Milzbrandserums direkt mit den umgekehrten Verhältnissen zu tun. Hier beruhen die Schwierigkeiten einer exakten Wertbemessung gerade auf der übergroßen Empfänglichkeit der kleinen, sonst in der prüfungstechnischen Praxis mit Vorliebe verwendeten Laboratoriumstiere für die Milzbrandinfektion. Schubert[53]) hatte bereits vor Jahren die von Sobernheim sowie von Sclavo angegebenen Methoden an Kaninchen, Meerschweinchen und Ratten nachgeprüft und gefunden,

„daß jeder gesetzmäßige Zusammenhang zwischen der Vorbehandlung dieser Tierarten mit dem Milzbrandserum und dem Verlauf der Infektion mit virulentem Milzbrand fehlt, daß sich ferner durch ein solches Experiment zwar sehr wohl der Schutzwert des Serums überhaupt nachweisen läßt, eine exakte quantitative Wertbemessung des Milzbrandserums jedoch hinsichtlich des Gehaltes an schützenden Substanzen nicht möglich erscheint".

Auch jetzt, nachdem viele Jahre seitdem verflossen sind, erscheinen die Verhältnisse hier nicht viel günstiger. Denn bei Nachuntersuchungen, mit denen Boehncke in Verbindung mit Bierbaum seit einigen Jahren im amtlichen Auftrage beschäftigt ist, und die sich insbesondere auf die in neuerer Zeit (von Ascoli bzw. von Rickmann und Joseph) angegebenen Wertbemessungsmethoden des Milzbrandserums erstrecken, konnten jedenfalls Resultate von prüfungstechnischer Konstanz mit keiner bisher angegebenen, sowie auch mit besonderen eigenen Variationen und

[53]) I.-D. Gießen, **1903** [*575*].

Modifikationen seitens der beiden Autoren nicht erzielt werden. Es zeigte sich zwar die Ascolische (an Meerschweinchen mit intraperitonealer Serum- und 24 Stunden späterer Kulturapplikation ausgeführte) Wertbemessungsmethode im ganzen brauchbar zur ungefähren Prüfung des von ihm selbst erzeugten Milzbrandserums bei Verwendung seines besonderen Milzbrandprüfungsstammes. Dagegen ließ sie bei der Bewertung anderer Milzbrandsera die schon allgemein und insbesondere für die amtliche Prüfungspraxis unumgänglich notwendige Prägnanz durchaus vermissen. Auch die zweitgenannte, erst neuerdings bekannt gegebene (ebenfalls an Meerschweinchen arbeitende) Methode ließ in den bisherigen von Bierbaum und Boehncke erhaltenen Versuchsreihen nicht immer regelmäßige Prüfungsresultate erkennen. Es erscheint jedoch der Schluß gerechtfertigt, daß das Versagen der einzelnen Methoden vielleicht weniger auf Mängel der Versuchstechnik, als auf eine nur selten genügende spezifische Wertigkeit der Milzbrandsera zurückzuführen sein dürfte. Ob sich eine Erhöhung des Titers in ähnlicher Weise, wie dies Boehncke (l. c. [23], [24]) durch Salvarsan beim Meningokokkenserum auch an größeren Versuchstieren gelang, erreichen ließe, muß vorläufig noch dahingestellt bleiben, wenn auch vielleicht die von Bierbaum[54]) erwiesene Verstärkung der Milzbrandserumwirkung durch Salvarsan zum Teil ein Analogon für das bei der aktiven Immunisierung ebenfalls Erreichte darbieten könnte.

Bei der Unsicherheit der Wertprüfungsmethode im Tierversuch erschien es angebracht, die Bestimmung der spezifischen Schutzstoffe im Reagenzglas zu versuchen. Die von Bierbaum und Boehncke in dieser Richtung unternommenen Versuche zeigten zunächst die Unzulänglichkeit der Agglutinations- und bakteriotropen Methode wegen ausgesprochener Spontanagglutination bzw. -phagocytose der Milzbrandbazillen. Ebenso mußte der bakterizide Versuch von vornherein ausscheiden, weil eine Reihe Normalsera von Tieren, die für eine Milzbrandinfektion sehr empfänglich sind (z. B. Kaninchen), ein ausgesprochenes Abtötungsvermögen für Milzbrandbazillen besitzen. Auch die Präzipitation erwies sich zur Wertbemessung ungeeignet. Denn einmal kommen präzipitierende Eigenschaften den Milzbrandseris überhaupt nur ausnahmsweise zu, sodann zeigen sich die eigentlichen präzipitierenden Milzbrandsera im Tierversuch in der Regel völlig wirkungslos, was auf ihre besondere, von der Erzeugung von Immunseris durchaus abweichende Herstellungsart zurückzuführen ist. Ebensowenig konnten die mit der Komplementbindungsreaktion angestellten Versuche in Übereinstimmung mit anderen Autoren die Brauchbarkeit dieser Methode zur Wertbemessung erkennen lassen, wobei noch zugefügt werden kann, daß die von anderer Seite behauptete Spezifität dieser

[54]) Deutsche med. Wochenschr., H. 43, **1912** [*296*].

Reaktion zur Milzbranddiagnose nach Untersuchungen von Bierbaum und Boehncke[55]) sich durchaus nicht feststellen ließ.

In Kürze wollen wir schließlich noch die Wertbemessung des Tuberkulins berühren, wenn dieses auch kein Schutz- oder Heilserum, sondern vielmehr ein Bakterienprodukt darstellt. Es rechtfertigt aber wohl seine Aufnahme in dieses Kapitel der Umstand, daß alle in Deutschland hergestellten Tuberkuline (Alttuberkulin; albumosefreies Tuberkulin; Perlsuchttuberkulin; Trockentuberkulin) der staatlichen Prüfungskontrolle im Ehrlichschen Institut unterliegen. Bekanntlich wird die Prüfung nach der von Dönitz[56]) ausgearbeiteten Methode an tuberkulösen Meerschweinchen durch Subkutaninjektion fallender Mengen Tuberkulins im Vergleich zu einem Standardtuberkulin von bekanntem Werte vorgenommen. Nach 24 Stunden ist die Prüfung beendet. Aus dem Vergleich der Wirkung beider Präparate ist die Beurteilung des zu prüfenden Tuberkulins ermöglicht. Diese Methode hat, wie bereits Otto[57]) und Berghaus[58]) berichteten und die seither an den verschiedenen Tuberkulinpräparaten gewonnenen Erfahrungen durchaus bestätigten, stets zu außerordentlich zuverlässigen und für die praktische Bewertung voll befriedigenden Resultaten geführt.

Für die Prüfung des „Taurumans" wurden im Ehrlichschen Institut (vgl. Otto, l. c. [14]) die in jeder Impfdosis enthaltenen Bakterienmassen durch Zentrifugieren in am unteren Ende verjüngten und graduierten Zentrifugengläsern bestimmt.

Wenn wir damit die gedrängte Schilderung der Serumprüfung in Theorie und Praxis beenden, so können wir wohl — resümierend — es aussprechen, daß gerade dieses Wissensgebiet, nicht nur in seinen allgemeinen Grundlagen, sondern zum Teil auch — wie insbesondere bei den antitoxischen Seris — bis in die feinsten Details Ehrlichs eigenstes und sicher fundiertes Werk ist. Die Beurteilung der Serumtherapie wurde damit herausgehoben aus dem Kreis reinster Empirie und die Deutung ihrer Wirksamkeit auf experimenteller Basis ermöglicht. Berücksichtigt man noch, wie sehr die Forschungen Ehrlichs dazu beigetragen haben, das Problem der aktiven Immunisierung und der Heilserumbereitung zu ergründen und zu vertiefen, so verdankt zweifellos ein hochbedeutsamer Anteil an dieser so wichtigen, weil spezifischen Quote unseres ärztlichen Rüstzeuges gegen die Infektionskrankheiten von Mensch und Tier seine großzügige Entwicklung dem Wirken und Schaffen von Paul Ehrlich.

[55]) Zeitschr. f. Inf.-Krankh. d. Haustiere, **XIV**, 231, **1913** [*300*].
[56]) Klin. Jahrbuch, **VII**, 71, **1898** [*335*].
[57]) Klin. Jahrbuch, **XIII**, 137, **1904** [*497*].
[58]) Centralbl. f. Bakt. **XLVI**, 725, **1908** [*285*].

13.

# Überempfindlichkeit (Anaphylaxie).

Von

**R. Otto,**

Berlin.

Wenngleich schon längst vor der Aufdeckung des Theobald Smithschen Phänomens als einer Erscheinung von hochgradiger Serumüberempfindlichkeit eine Reihe von Tatsachen bekannt waren, die in das später so ausgedehnt bearbeitete Gebiet der „Anaphylaxie" gehören, so kann man doch behaupten, daß die experimentelle Erforschung der letzteren erst durch die Auffindung des Meerschweinchens als eines Versuchstieres par excellence für anaphylaktische Studien eine neue, ungeahnte Ausdehnung gefunden hat. In dieser Hinsicht bedeuteten sowohl die auf Anregung von Paul Ehrlich im Frankfurter Institut für experimentelle Therapie ausgeführten Untersuchungen, welche zunächst zu einer restlosen Analyse des Theobald Smithschen Phänomens führten, als auch die bald darauf veröffentlichten Versuche von Rosenau und Anderson einen der wichtigsten Ausgangspunkte in der modernen Anaphylaxieforschung.

Theobald Smith hatte die Beobachtung gemacht, daß Meerschweinchen, die früher einmal zur Wertbestimmung von Diphtherieheilserum gedient hatten, akut eingingen oder doch schwer erkrankten, wenn man ihnen einige Zeit später einige Kubikzentimeter Pferdeserum injizierte. Auf diese Erscheinung machte er Paul Ehrlich gelegentlich dessen Amerikareise im Jahre 1904 aufmerksam. Ehrlich veranlaßte mich nach seiner Rückkehr, eine Analyse dieses Phänomens zu versuchen, da eine experimentelle Erklärung bis dahin nicht gelungen war.

Heute, wo uns die Meerschweinchenanaphylaxie etwas durchaus Geläufiges ist, kann man sich wohl fragen, weshalb die Erklärung des Phänomens überhaupt Schwierigkeiten machte? Es erscheint uns fast

unverständlich, daß solche vorliegen konnten, zumal doch die Beobachtungen vieler Autoren über Überempfindlichkeitserscheinungen bekannt waren, von denen ich hier nur diejenigen von Robert Koch, v. Behring, Richet, Kretz, Arthus, A. Wolff, v. Pirquet und Schick nennen will. Und trotzdem bedurfte es eingehender Versuche, ehe der Nachweis gelang, daß es sich beim Theobald Smithschen Phänomen um weiter nichts als eine spezifische Serumüberempfindlichkeit handelte.

Diese Schwierigkeit lag hauptsächlich in folgendem. Bei der Serumprüfung, die den Ausgangspunkt der Beobachtung Theobald Smiths bildete, wurden die Meerschweinchen zu zweierlei Versuchen benutzt:

1. zur Auswertung des Heilserums, wobei die Tiere ein Toxin-Antitoxingemisch subkutan erhielten („Prüfungstiere") und

2. zur Prüfung der Unschädlichkeit des Serums, bei welchen Versuchen den Tieren größere Dosen Serum allein (ebenfalls subkutan) injiziert wurden („Serumtiere").

Diese letztere Prüfung auf Unschädlichkeit findet neben der Ausführung bakteriologischer Untersuchungen auf Sterilität statt, um zu garantieren, daß das Serum auch keine Toxine, speziell keine Tetanustoxine, enthält.

Ein großer Teil der „Prüfungstiere", sowie die mit Serum allein vorbehandelten „Serumtiere" überstehen die Injektion. Letztere erkranken überhaupt nicht. Es lag nun aus Sparsamkeitsrücksichten nahe, die davongekommenen Tiere bei den weiteren Serumprüfungen (speziell auf Unschädlichkeit) zu benutzen. Bei der wiederholten Benutzung zeigte sich nun ein markanter Unterschied zwischen den früher einmal mit Toxin-Antitoxingemisch vorbehandelten „Prüfungstieren" und den „Serumtieren", welche, wie gesagt, allein mit Serum vorbehandelt waren: erstere erkrankten schwer oder starben, letztere blieben meist völlig gesund. Diese Tatsache mußte zunächst dafür sprechen, daß das Serum allein nicht die Ursache des plötzlichen Todes der Tiere bei der Reinjektion war. Hatte doch den Serumtieren selbst die Injektion großer Serum-Dosen (10 ccm) nicht geschadet, während die Prüfungstiere schwer erkrankten, trotzdem sie nur minimale Mengen Serum erhalten hatten (z. B. 0,005 ccm bei der Wertbemessung eines 200fachen oder 0,002 ccm bei der eines 500fachen Serums).

Wir konnten die Beobachtungen Theobald Smiths völlig bestätigen. Einige Wochen nach der ersten Benutzung nochmals mit 6—10 ccm Heilserum vom Pferde oder normalem Pferdeserum subkutan reinjizierte, äußerlich völlig gesunde „Prüfungstiere" erkrankten schwer oder gingen akut ein, während die sog. „Serumtiere" bei der gleichen Behandlung gesund blieben.

Bei unseren Versuchen zeigte sich aber, daß allein nur Pferdeserum bei den vorbehandelten Tieren krankmachend wirkte, nicht aber Kaninchen-, Ochsen- oder Ziegenserum. Es legte dies doch wieder die Annahme einer spezifischen Serumüberempfindlichkeit nahe, zumal nachdem sich gezeigt hatte, daß das Diphtheriegift allein keine Anaphylaxie bei den nur mit Gift behandelten Tieren verursachte. Es konnte jedoch der Einwand erhoben werden, daß das Gift trotzdem eine Rolle bei der Auslösung des Phänomens spiele, insofern als die Möglichkeit vorlag, daß hierbei nicht das

Toxin, sondern das Toxon das wirksame Prinzip darstellte. Da nun nach den Versuchen Ehrlichs das Toxon in der Regel weit weniger konzentriert im Gift enthalten ist, als das Toxin, und da die Tiere, welche Gift allein erhalten hatten, nur mit Bruchteilen der Dosis letalis minima behandelt werden konnten, so waren die angewandten kleinen Giftdosen tatsächlich nur ganz gering toxonhaltig. Die Frage, ob eine Toxonvergiftung vorlag, ließ sich aber dadurch entscheiden, daß wir an Ziegen ein Diphtherieantitoxin herstellten. Da die mit Gemischen von Toxin + Antitoxin von der Ziege vorbehandelten Tiere keinerlei Überempfindlichkeit gegen Pferdeserum zeigten, konnte auch das Toxon als Ursache des Theobald Smithschen Phänomens ausgeschlossen werden. Als wir dann weiter Meerschweinchen mit minimalen Dosen von Pferdeserum allein ohne Toxinzusatz behandelten, erwiesen sich diese nach gleicher Zeit anaphylaktisch gegen Pferdeserum, wenn auch nicht in so hohem Grade wie die mit Toxin + Serum vorbehandelten Tiere. Damit war bewiesen, daß das Serum allein die Hauptrolle bei dem Zustandekommen des Phänomens spielte. (Auch zeigte sich später, daß die Unempfindlichkeit der früher mit großen Dosen vorbehandelten Tiere gegen die subkutane Reinjektion von Pferdeserum nur eine vorübergehende Erscheinung war.) Aus dem Befunde, daß die mit Toxin — Antitoxingemischen vorbehandelten Tiere regelmäßig stärkere Anaphylaxie als die mit Serum allein anaphylaktisierten Tiere zeigten, schlossen wir für unseren speziellen Fall, daß es zu einer verstärkten Wirkung des Eiweißantigens durch Stimulation der Zellen durch Spuren von anwesenden Toxin- oder Toxonresten gekommen war. Diese Tatsache, daß nämlich die mit Gift-Serumgemischen behandelten Tiere hohe Grade von Anaphylaxie zeigen, ist später von einer großen Anzahl von Autoren bestätigt worden. Sie veranlaßte uns auch, das Phänomen besonders zu bezeichnen und mit dem Namen Theobald Smiths zu belegen.

Wir kamen also auf Grund unserer Versuche[1]) zu dem Schlusse, daß das „Theobald Smithsche Phänomen" eine spezifische Serumüberempfindlichkeit höchsten Grades ist, und haben es in einem Nachtrage zu unserer ersten Publikation nach Einsicht der inzwischen erschienenen Monographie von v. Pirquet und Schick über die „Serumkrankheit", die erst während der Drucklegung der v. Leuthold-Gedenkschrift*) zu unserer Kenntnis gelangte, als ein Beispiel „sofortiger Allgemeinreaktion" im Sinne dieser Autoren aufgefaßt.

Schon in dieser ersten Arbeit haben wir ein weiteres wichtiges, von uns zuerst beobachtetes Phänomen erwähnt, das bis dahin in der Anaphylaxielehre unbekannt war. Wir fanden nämlich, daß überempfindliche Meerschweinchen, welche einige Zeit nach der überstandenen Reinjektion nochmals große Dosen Serums injiziert erhielten, keinerlei Krankheitserscheinungen zeigten, und daß man auch durch zweckmäßige Vorbehandlung den Ausbruch der Anaphylaxie bei den später sonst

*) Das Manuskript für die Gedenkschrift, welche zum 15. II. 1906 herausgegeben werden sollte, wurde im Herbst 1905 eingesandt.

[1]) v. Leuthold-Gedenkschrift, **I**, 153; **1906** [*498*].

hochempfindlichen „Prüfungstieren" für bestimmte Zeit verhüten konnte, wenn man sie nämlich — vor Eintritt der Anaphylaxie — mit größeren Dosen Serums vorbehandelt hatte. Es war uns also gelungen, die Überempfindlichkeit der Tiere durch geeignete Zufuhr von Antigen aufzuheben und die Tiere gegen das sonst toxisch wirkende fremdartige Eiweiß zu „immunisieren". Bekanntlich wurde diese Erscheinung dann auch von Rosenau und Anderson beobachtet. Sie ist später von Besredka mit dem Namen „Antianaphylaxie" belegt worden.

Die von uns im Ehrlichschen Institut fortgesetzten Anaphylaxiestudien[2]) führten uns dann unabhängig von den unter ähnlichen Versuchsbedingungen gewonnenen Resultaten Nicolles am Kaninchen zur Feststellung einer dritten sehr wichtigen Tatsache, nämlich der, daß man mit dem Blutserum vorbehandelter Tiere die Anaphylaxie passiv übertragen kann. Wir nahmen auf Grund unserer Versuche an, daß es sich hierbei um die Wirkung spezifischer Antikörper handelte, und schlugen für diese die Bezeichnung „anaphylaktische Reaktionskörper" vor.

Ohne auf die Einzelheiten und Ergebnisse der weiteren Versuche über die Wirkung und den Bau dieser Antikörper näher einzugehen, möchte ich nur erwähnen, daß uns die passive Übertragung der Überempfindlichkeit sowohl mit homologem wie mit heterologem Serum gelang. Besonders hinweisen möchte ich jedoch darauf, daß ich schon damals zeigen konnte, daß die passive Übertragung der Anaphylaxie nur dann zum Ausdruck kommt, wenn das Antigen durch ein gewisses Zeitintervall getrennt, erst nach dem Antiserum injiziert wird, eine Tatsache, die bald darauf von U. Friedemann bestätigt wurde und auch heute noch für das Verständnis der Meerschweinchenanaphylaxie wesentlich erscheinen muß. Sie hat uns zu dem Schlusse geführt, daß zur Erzeugung des anaphylaktischen Shocks eine Verankerung der Antikörper an die Körperzellen vorangegangen sein muß, die die Reaktionsfähigkeit derselben gegenüber dem Antigen ändert. Gerade aus diesem Grunde sprachen wir auch von „anaphylaktischen Reaktionskörpern". [Ich habe später vorgeschlagen, das Vorhandensein dieser Antikörper zur klinischen Diagnose beim Menschen z. B. auf das Vorliegen von Serumüberempfindlichkeit zu benutzen (Therapie der Gegenwart 1908)].

Die weiteren Beobachtungen über die Dauer der Anaphylaxie, die Vererbung der Überempfindlichkeit auf die Jungen allergischer Tiere, das präanaphylaktische Stadium usw., sollen hier ebenfalls nicht näher

[2]) Münch. med. Wochenschr., H. 34, **1907** [*499*].

erörtert werden. Ein Überblick der Ergebnisse dieses Teiles der Serumüberempfindlichkeits-Arbeiten aus dem Ehrlichschen Institut läßt sich aus meinem Referat „Über Anaphylaxie und Serumkrankheit" im Handbuch von Kolle-Wassermann (I. Aufl., 2. Ergänzungsband, Jena 1908) gewinnen. Hervorgehoben sei nur, daß wir schon damals die Frage diskutiert haben, ob vielleicht das Komplement bei dem anaphylaktischen Shock eine Rolle spiele. In meiner Arbeit über „Serumüberempfindlichkeit" aus dem Jahre 1907 (l. c. [2]) schrieb ich über das Ergebnis von Versuchen mit dem Serum von aktiv anaphylaktisierten Tieren, die nach der Reinjektion von normalem Pferdeserum typisch schwer erkrankt waren, . . . „daß das Serum solcher Tiere im hämolytischen Versuch keinen wesentlichen Verlust*) seiner lytischen Wirksamkeit im Vergleich zu dem Serum normaler Meerschweinchen (nach der gleichen Injektion) zeigte". „Es ergaben sich somit aus diesen Versuchen" — so führte ich weiter aus — „keine Anhaltspunkte für die Annahme, daß die Überempfindlichkeitsreaktion durch plötzlichen Komplementverlust bedingt sein könnte".

Bekanntlich haben später verschiedene Autoren der, wie gesagt, von uns schon beobachteten, aber wegen der zu geringen Differenzen als unwesentlich angesehenen Komplementabnahme eine große Bedeutung beim anaphylaktischen Shock beigelegt, speziell nachdem man bei passiv anaphylaktischen Tieren intensive Komplementabnahme beobachtet hatte. Es soll hier die Frage der Bedeutung des Komplements bei der Anaphylaxie nicht näher erörtert werden. Ich möchte nur zu dem von mir erhobenen Befunde bemerken, daß wir damals immer versucht haben, ein Zusammentreffen von Antigen und Antikörper im Blut des Versuchstieres, das ja Komplementbindung erwarten ließ, möglichst zu vermeiden. Daher habe ich die Tiere, die durch subkutane Injektionen anaphylaktisiert waren, bei diesen Versuchen stets nur intraperitoneal (nie intravenös) reinjiziert, um so von den erkrankten Tieren möglichst gering antigenhaltiges Serum zu gewinnen. Bei den Nachprüfungen sind dagegen von zahlreichen Autoren gerade intravenöse Reinjektionen gewählt worden. Die Frage des Komplements ist später auf Grund der zuerst von Friedemann und Friedberger erhobenen Befunde von allergrößter Wichtigkeit geworden, nachdem Friedberger seine Anaphylatoxintheorie aufgestellt hat. Dementsprechend haben sich auch die späteren Anaphylaxieforschungen im Ehrlichschen Institut hauptsächlich mit diesem Kapitel der Überempfindlichkeit beschäftigt.

Ritz[3]) befaßte sich zunächst mit der Frage der Antikörperbildung

*) Im Original nicht gesperrt.

[3]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **IX**, 321; **1911** [*517*].

und Anaphylaxie bei weißen Mäusen, welche Tiere nach den damals vorliegenden Angaben der meisten Autoren hinsichtlich der Anaphylaxie refraktär zu sein schienen. Nur Braun war es gelungen, das Entstehen von Anaphylaxie bei dieser Tierart nachzuweisen. Eine Erklärung glaubte man für diese Sonderstellung der Maus, die zugleich auch wegen des Mangels an Komplement bekannt war, in ihrer Unfähigkeit zur Antikörperbildung zu finden. Ritz gelang es nun relativ leicht, von weißen Mäusen hämolytische Antikörper zu erhalten. Auch andere Antikörper (präzipitierende und komplementbindende) ließen sich durch geeignete Vorbehandlung gewinnen. Ebenso wurden die Mäuse in hohem Prozentsatz besonders nach zweimaliger Vorbehandlung anaphylaktisch, wenn die Reinjektion intravenös erfolgte. Daß echte Anaphylaxie vorlag, dokumentierte sich in dem Eintreten einer antianaphylaktischen Periode. Mit Recht hebt Ritz hervor, daß das Fehlen nachweisbarer Komplementmengen bei der Maus und die relativ leicht erzeugbare Anaphylaxie bei diesen Tieren sich schwer mit der dem Komplement zugeschriebenen Bedeutung bei der Anaphylaxie vereinigen lassen, ohne dies als Beweis gegen die Theorie Friedbergers anzusehen. Auch die folgenden Untersuchungen von Sachs und Ritz[4]) über das „Anaphylatoxin" brachten aus dem Institut Ehrlichs eine Reihe neuer Tatsachen über das Anaphylatoxin Friedbergers, die hier alle nicht in extenso wiedergegeben werden können. Es sei nur hervorgehoben, daß aus diesen Untersuchungen hervorging, daß das komplementabsorbierende Kaolin in geeigneter Menge die Anaphylatoxinbildung verhindert, und daß es die Anaphylatoxinlösung selbst in kürzester Zeit entgiftet. Ebenso konnte durch erneute Einsaat von Bakterien eine Abschwächung des Giftes erzielt werden.

Daß in der Tat bei der Anaphylatoxinbildung auch Entgiftungsvorgängen besondere Aufmerksamkeit zu schenken ist, zeigten insbesondere Versuche mit frischen und gekochten Metschnikoff-Vibrionen, auf deren verschiedenes Verhalten bei der Giftbildung bereits Friedberger hingewiesen hatte. Sachs und Ritz zeigten nun, daß frische Vibrionen kein Gift entstehen lassen, aber auch fertiges Anaphylatoxin entgiften, während sich gekochte Vibrionen in beiden Funktionen diametral entgegengesetzt verhielten.

Eine Reihe weiterer interessanter Beobachtungen über das „Anaphylatoxin" teilten Sachs und Ritz[5]) in ihrem Vortrage auf der 5. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie (1911) mit. Wenngleich sie die Beobachtungen Friedbergers bestätigen und vielfach erweitern konnten (es sei nur auf die von ihnen eingehend studierten Differenzen

[4]) Berl. klin. Wochenschr., H. 22, **1911** [*522*].

[5]) Centralbl.. f. Bakt., Ref. **L**, Beiheft, S. 43, **1911** [*523*].

zwischen Anaphylatoxin- und Pepton-Wirkung hingewiesen), so betonten sie doch, daß keine zwingenden Beweise für die Betätigung des Komplements bei der Anaphylatoxinbildung nach ihren Befunden bestehen, daß vielmehr nach dem vorliegenden Tatsachenmaterial als Quelle des Anaphylatoxins körpereigene Stoffe (also beim Meerschweinchenserum Bestandteile des Meerschweinchenserums) anzusehen sind. Sie machen speziell darauf aufmerksam, daß bei Abnahme von Komplementwirkung nicht sogleich auf Komplementschwund geschlossen werden darf.

Ritz[6]) konnte dann weiter noch zeigen, daß der aus der Schutzwirkung hypertonischer Kochsalzlösungen in vivo gezogene Rückschluß Friedbergers auf eine Beteiligung des Komplements beim anaphylaktischen Anfall nicht ganz stichhaltig sein kann, da die Injektion einer solchen Kochsalzlösung auch gegen fertiges Anaphylatoxin schützt. Immerhin sprach die gleiche Wirkung des Kochsalzes bei aktiver Anaphylaxie, bei der Anaphylatoxinwirkung und der Peptonvergiftung für enge Beziehungen bei diesen Phänomenen.

Sachs[7]) hat auf der 6. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie nochmals das Wesentliche seiner Untersuchungen zusammengefaßt, die ihn (im Gegensatz zu Friedberger) zur Ansicht geführt haben, daß er dem Antikörper bei der Anaphylaxie keine direkte funktionelle Rolle zuschreiben kann und dementsprechend die Beteiligung des Komplements bei der Anaphylaxie nicht für erforderlich erachtet. Er ist vielmehr zu der Überzeugung gelangt, daß der Antigen-Antikörperkomplex indirekt auf die Blutbeschaffenheit derart einwirkt, daß eine schwere Noxe entsteht.

Ehe ich auf die weiteren Arbeiten aus dem Sachsschen Laboratorium eingehe, muß ich hier zunächst einige andere Anaphylatoxinuntersuchungen, die von Boehncke und Bierbaum aus dem Ehrlichschen Institut geliefert sind, erwähnen.

Boehncke[8]) stellte Versuche über die Anaphylatoxinbildung aus Meningokokken an, die von Interesse erschienen, da sich bekanntlich die verschiedenen Kokken in dieser Hinsicht verschieden verhalten. Er konnte mit Meningokokken Anaphylatoxine gewinnen. Dabei zeigte es sich, daß sich hierzu ungekochte Kulturen besser eignen, als gekochte und junge besser, als ältere. In Übereinstimmung mit Lurà und im Gegensatz zu Besredka und Ströbel gelang die Anaphylatoxinabspaltung bei Meningokokken auch aus peptonfreien Kulturen, dagegen nicht aus Extrakten.

[6]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **XII**, 644; **1912** [*518*].
[7]) Centralbl. f. Bakt., Ref. **LIV**, Beiheft, S. 248, **1912** [*559*].
[8]) Zeitschr. f. Hyg., **LXXII**, 305, **1912** [*308*].

In weiteren Arbeiten haben Boehncke und Bierbaum[9][10]) erneut nachgewiesen, daß die ebengenannte Auffassung Besredkas und Ströbels von dem Anaphylatoxin als eines aus dem Pepton des Nährbodens entstandenen Giftes nicht zutreffend ist. Bemerkenswert aus ihren Arbeiten über das Milzbrand- und das Rotlaufanaphylatoxin (l. c. [9])[11]) ist die Tatsache, daß mit reinem Immunserum sensibilisierte Milzbrandbakterien keine Anaphylatoxinreaktion auslösten, und daß die Rotlaufbazillen nach viermaliger Digerierung noch Anaphylatoxin bildeten. Auch die folgenden Untersuchungen der Autoren[12]) sprachen dafür, daß durch wiederholtes Digerieren des Antigens mit frischem Meerschweinchenserum eine Erschöpfung des Antigens bezüglich der Anaphylatoxinbildung nicht eintritt. Zugleich studierten Boehncke und Bierbaum den Einfluß der Kälte auf die Anaphylatoxinbildung. Das Ergebnis ihrer Untersuchungen war, daß mehrfaches Einfrieren und Auftauen weder das Antigen noch das Komplementserum ungeeignet zur Anaphylatoxinabspaltung machte. Das in vitro gebildete Anaphylatoxin erwies sich gegen wiederholtes Einfrieren und Auftauen resistent.

Auch Sachs und seine Mitarbeiter haben, wie bereits angedeutet, zu dem Thema „Anaphylatoxin" weitere Beiträge geliefert. Im Anschluß an die interessante Beobachtung von Bordet, daß es durch einfaches Digerieren von Meerschweinchenserum mit Agar — ohne weiteren Zusatz — gelingt, ein dem naphylatoxin gleiches Gift zu erzielen, stellte E. Nathan[13]) im Ehrlichschen Institut ähnliche Versuche an. Dabei konnten die Angaben Bordets bestätigt werden. Zur Herstellung des Anaphylatoxins erwies sich die Kombination von 0,1 ccm ½%iger Agarlösung mit 5,0 ccm Meerschweinchenserum als ausreichend. Nach Nathan spricht diese Tatsache für die von Sachs vertretenen, oben bereits erwähnten Anschauungen, wenngleich Nathan es zweifelhaft läßt, ob man in ihnen einen hinreichenden Beweis gegen Friedbergers Theorien erblicken darf. Noch kleinere Eiweißmengen genügten bei Nathans Versuchen zur Anaphylatoxinbildung aus Stärke[14]). Es gelang ihm mit großer Regelmäßigkeit die Anaphylatoxinbildung beim Kontakt von 5 ccm Meerschweinchenserum mit Stärkemengen, die zwischen 1,0 und 0,0005 ccm einer 10%igen Stärkelösung variierten. Das benutzte Stärkepräparat war nicht vollkommen stickstoffrei, sondern enthielt etwa

[9]) Berl. tierärzt. Wochenschr., H. 19, **1912** [*299*].
[10]) Centralbl. f. Bakt., **LXV**, 504; **1912** [*314*].
[11]) Zeitschr. f. Infektionskrankh. der Haustiere, **XII**, 159; **1912** [*258*].
[12]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **XIV**, 130; **1912** [*315*].
[13]) Ebenda, **XVII**, 478; **1913** [*461*].
[14]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **XVIII**, 636; **1913** [*462*].

0,2% Stickstoffsubstanz, so daß die Giftbildung im Sinne Friedbergers nicht absolut auszuschließen war. Immerhin betrugen die in Betracht kommenden Eiweißmengen höchstens $^1/_{10000}$ mg.

Sehr interessante Ausblicke hinsichtlich der Erklärung der sog. Antiserumanaphylaxie brachten dann schließlich die Arbeiten von Orudschiew, Sachs und Nathan. Orudschiew[15]) stellte Versuche an im Anschluß an die bekannten Beobachtungen Forssmans, der durch Vorbehandlung von Kaninchen mit den Organen von Meerschweinchen und anderen Tierarten Hammelbluthämolysine erzeugte, und prüfte, ob Beziehungen der hämolytischen Hammelblutambozeptoren zu den Rezeptoren des Meerschweinchens beständen. Nach seinen Befunden darf man tatsächlich solche annehmen. Die bisher noch so rätselhafte starke primäre Toxizität der Antisera, speziell der Hammelantisera, beruht danach vielleicht auf einfacher Antikörperwirkung auf die im Meerschweinchenorganismus vorhandenen Antigene.

Zu gleichen Schlußfolgerungen gelangten auch Sachs und Nathan[16]) bei ihren Immunisierungsversuchen mit gekochtem Hammelblut. Derartige Antisera wirkten im inaktivierten Zustande auf Meerschweinchen toxisch. Aus ihren Untersuchungen zogen Sachs und Nathan unter Berücksichtigung der weiteren Untersuchungsergebnisse von Forssman, Forssman und Hintze, Orudschiew, Doerr und Pick ebenfalls den Schluß, daß die Antiserumanaphylaxie, d. h. die primäre Toxizität der Antisera durch eine Rezeptorengemeinschaft bei fernerstehenden Tierarten zu erklären ist.

Soviel über die speziell mit der Anaphylaxie sich beschäftigenden Arbeiten aus dem Ehrlichschen Institut. Betrachtet man das Ergebnis, so wird man nicht nur zugestehen, daß durch diese eine Reihe grundlegender Tatsachen zutage gefördert sind, die die experimentelle Anaphylaxieforschung neu belebt haben, sondern auch anerkennen, daß bei der späteren Bearbeitung der Anaphylaxieerscheinungen die Arbeiten des Instituts besonders klärend und fördernd gewirkt haben.

Zum Schlusse muß ich noch auf einige Beobachtungen von „Überempfindlichkeit" hinweisen, die Paul Ehrlich selbst, zum Teil schon lange Zeit vor den bisher erwähnten Arbeiten aus seinem Institut, gemacht hat, und die zum anderen Teil nicht direkt in das engere Gebiete der Anaphylaxie fallen.

Daß Ehrlich bei seinen umfangreichen Immunitätsstudien Erscheinungen von Überempfindlichkeit begegnet ist, kann nicht überraschen, da ja diese Phänomene mit der Immunität eng verbunden sind.

[15]) Ebenda, **XVI**, 268; **1913** [*496*].
[16]) Ebenda, **XIX**, 235; **1913** [*566*].

Interessant erscheint mir vor allem im Hinblick auf die neueren Versuche von Schenck (Münch. med. Wochenschr. 1910) die schon von Ehrlich[17]) beobachtete, aber stark in Vergessenheit geratene Tatsache, daß die Jungen mit Abrin vorbehandelter Männchen eine Überempfindlichkeit gegen diese Substanz zeigen. Bei seinen Versuchen über die „Immunität durch Vererbung und Säugung" im Jahre 1892 beobachtete nämlich Ehrlich, daß die Nachkommenschaft eines hochimmunen Mäusevaters und einer normalen, nicht vorbehandelten Mutter zwar nicht den geringsten Grad von Abrinfestigkeit besaßen, dagegen aber „eine über das gewöhnliche Maß gesteigerte Empfindlichkeit gegen dieses Toxalbumin".*) Aus seinen Versuchsprotokollen ist diese Tatsache klar ersichtlich. Auch bei Durchsicht der Tabellen der Arbeit von Ehrlich und Hübener über die Vererbung der Immunität bei Tetanus[18]) gewinnt man den Eindruck, als ob die Jungen immuner Väter besonders in der ersten Lebenszeit häufig empfindlicher gegen das Gift waren, als die normalen Kontrolltiere.

Aber auch sonst hat sich Ehrlich schon frühzeitig mit dem Problem der Überempfindlichkeit befaßt. Besonderes Interesse für alle Immunitätsforscher erregte ja die merkwürdige Erscheinung, daß gerade hochimmunisierte Tiere gegen Toxine und speziell gegen das für normale Tiere äquilibrierte Toxin-Antitoxingemisch empfindlich waren. Speziell v. Behring hat ja bekanntlich auf die Entstehung der „Überempfindlichkeit" unter dem Einfluß der Giftbehandlung häufig hingewiesen. Welche Schwierigkeiten dieses Phänomen einer Erklärung bereitete, geht am besten daraus hervor, daß (wie Ehrlich[19]) selbst in seiner Entgegnung auf Grubers Angriffe im Jahre 1903 sagt), ihn das Prinzip der Überempfindlichkeit lange von der Veröffentlichung seiner Seitenkettentheorie zurückgehalten habe. Erst die Erwägung einer Aviditätssteigerung (der „sessilen Rezeptoren", Ehrlich und Morgenroth[20])) und einer Sprengung der Toxin-Antitoxinverbindung (vgl. hierzu auch die Arbeit von Sachs[21])) habe ihm und Kretz die Möglichkeit gegeben, auch diese Erscheinungen auf dem Boden der Seitenkettentheorie zu verstehen.

Hingewiesen sei auch in diesem Zusammenhange auf die von Ehrlich[22]) aufgestellte Theorie der Tuberkulinwirkung, die er wohl zum

*) Im Original nicht gesperrt.

[17]) Zeitschr. f. Hyg., **XII**, 183; **1892** [*53*].

[18]) Ebenda, **XVIII**, 51; **1894** [*182*].

[19]) Münch. med. Wochenschr., H. 33 u. 34, S. 1428; **1903** [*81*].

[20]) Berl. klin. Wochenschr., H. 21/22, S. 569; **1901** [*197*].

[21]) Centr. f. Bakt., **XXX**, 491, **1901** [*535*].

[22]) The Lancet, S. 917, **1891** [*51*].

ersten Male auf dem Kongreß für Hygiene und Demographie 1891 in London vorgetragen hat. Er nimmt zur Erklärung der Herdreaktionen an, daß der tuberkulöse Herd, wie eine Zwiebel, von mehreren Zellschichten umgeben ist. Während danach die innere Schicht mit den Stoffwechselprodukten der Tuberkelbazillen völlig durchsetzt, die äußerste noch gänzlich frei ist, ist die mittlere Schicht durch das Tuberkulin soweit geschädigt, daß sie die geeignete Stätte zur Auslösung der Reaktion bei der Einwirkung des durch die Tuberkulinzufuhr bedingten Reizes darstellt. Diese Hypothese macht es übrigens auch verständlich, weshalb starke Reaktionen bei geringer, schwache bei hochgradiger Tuberkulose vorkommen können.

Dem „Überempfindlichkeitsphänomen" ist Ehrlich schließlich auch bei seinen chemotherapeutischen Arbeiten[23]) begegnet. Auch hier beobachtete er die auffällige Erscheinung, daß Immunität und Überempfindlichkeit in demselben Organismus bestehen können. Brachte er einen in vivo höchst arzneifesten Stamm im Reagenzglas mit dem betreffenden Arsenical zusammen, so zeigte sich, daß im Vergleich zum „Ausgangsstamm" der „Immunstamm" statt der erwarteten Resistenz unter Umständen eine hohe Empfänglichkeit zeigte. Wurden z. B. zwei Tiere mit ungefähr gleichem Parasitengehalt gewählt und ihr Blut im Reagenzglas mit den verschiedenen perzentierten Lösungen des „Trypocids" versetzt, so ergab sich, daß der Immunstamm bei einer Konzentration von $^1/_{500}$ bis $^1/_{1000}$ fast momentan abgetötet wurde, während der Kontrollstamm bis 5 Minuten seine volle Beweglichkeit behielt.

Die Erklärung für diese Erscheinung, daß ein in vivo arzneifester Stamm in vitro eher überempfindlich ist, bereitete ebenfalls nicht unerhebliche Schwierigkeiten. Sie liegt nach Ehrlich[24]) in dem Umstande, daß in der Trypanosomenzelle zwei besondere Gruppierungen bestehen, nämlich einmal biologische Substrate, die mit der Beweglichkeit des Protoplasmas als solchem in Konnex stehen, dann aber solche, welche den Kern bzw. den Kernapparat als wesentliche Teile für die Vermehrung der Parasiten betreffen. Im vorliegenden Falle ist die letztere Gruppe gegenüber dem „Trypocid" unterempfindlich gewesen, das Protoplasma dagegen ausgesprochen überempfindlich.

[23]) Beiträge z. exp. Pathol. u. Chemotherapie, S. 63, Leipzig **1909** [*100*].
[24]) Arch. f. Schiffs- u. Tropen-Hyg., XIII, Beiheft 6, S. 91; **1909** [*110*].

14.

# Fermente und Antifermente.

Von

**U. Friedemann.**

Berlin.

Die Arbeiten über die Antifermente beginnen in einer Zeit, in der die Anschauungen Ehrlichs über die Wirkungsweise der Schutzstoffe, die heute eine der festesten und unbestrittensten Grundlagen der Immunitätslehre bilden, noch nicht allgemeine Anerkennung gefunden hatten. Sie bilden ein wichtiges Glied in der Kette der Beweise für die Ansicht, daß bei allen bekannten Immunitätsreaktionen Antikörper und Antigen direkt miteinander chemisch reagieren.

Hatte auch die Entdeckung der Bakteriolysine, Hämolysine, Agglutinine und Präzipitine die Richtigkeit des von Ehrlich von vornherein vertretenen Standpunktes für diese Antikörper zur Evidenz erwiesen, so stieß doch gerade bei den am längsten gekannten Schutzstoffen, den Antitoxinen, die Ehrlichsche Ansicht immer noch auf Widerspruch. Besonders die französische Schule vertrat unter Führung von Roux die Auffassung, daß das Antitoxin kein chemisches, sondern ein physiologisches Gegengift sei, welches nicht das Toxin neutralisiere, sondern den Organismus direkt gegen dessen Wirkung schütze, in ähnlicher Weise etwa, wie Morphium als Gegengift des Atropins angewandt werden kann, ohne doch mit diesem selbst zu reagieren. Es kann nur an dieser Stelle ganz kurz darauf hingewiesen werden, daß Ehrlich schon zahlreiche Argumente zugunsten seiner Auffassung anführte, unter denen dem Gesetz der Multipla, der im Reagenzglas zu beobachtenden Reaktionszeit zwischen Toxin und Antitoxin und deren Beschleunigung durch erhöhte Temperatur und in konzentrierteren Lösungen die größte Beweiskraft zukommt.

In besonders eleganter und in methodischer Hinsicht vollkommen

neuer Weise konnte dann Ehrlich[1]) eine Toxin-Antitoxinreaktion im Reagenzglas demonstrieren, indem er zeigte, daß die blutkörperchenagglutinierende Eigenschaft des Rizins durch ein spezifisches Antiserum aufgehoben werden kann. Aber auch gegen dieses Argument wurde von Paltauf eingewendet, daß das Antitoxin die Erythrocyten als lebende Gewebszellen selbst und nicht das Rizin beeinflussen könnte. Wenn nun auch dieser Einwurf unschwer als sehr unwahrscheinlich erwiesen werden kann, so machte sich doch das Bedürfnis fühlbar, einen der Toxin-Antitoxinreaktion analogen Vorgang aufzufinden, bei dem geformte Elemente überhaupt keine Rolle spielten.

Der Gedanke, zur Entscheidung dieser Frage die Fermente heranzuziehen, entwickelte sich folgerichtig aus den Grundanschauungen der Ehrlichschen Seitenkettentheorie. Zwar waren Analogien zwischen den Toxinen und den Fermenten auch schon von anderer Seite, und von keinem geringeren als dem Entdecker der Toxine, Roux, hervorgehoben worden. Die geringe Widerstandsfähigkeit gegen Licht und Wärme ist beiden Körperklassen ebenso gemeinsam wie ihre Wirksamkeit in kleinsten Mengen. Aber die physikalisch-chemischen Eigenschaften dieser Stoffe wurzeln wahrscheinlich zum Teil in ihrem kolloidalen Zustand und, inwieweit Toxin- und Fermentwirkung einander verwandt sind, ist schwer zu sagen, da beider Wesen so völlig im Dunkel liegt. Keineswegs konnte aus diesen zunächst nur äußerlichen Analogieen abgeleitet werden, daß auch die Fermente spezifische Antikörper wie die Toxine bilden würden.

Dieser Schluß ergab sich aber in logischer Konsequenz aus der für Ehrlichs Seitenkettentheorie grundlegenden Ansicht über die spezifische Bindung des Toxins an die Zelle. Eine Antikörperbildung ist ja bekanntlich nach Ehrlich nur möglich, wenn das Gift ganz spezifische Affinitäten zu einem in der Zelle vorhandenen Rezeptor besitzt. Bei der Entwicklung seiner Anschauungen hatte nun Ehrlich wiederholt darauf hingewiesen, daß ähnliche Spezifizitätserscheinungen wie in der Immunitätslehre auch im Gebiet der Fermente eine Rolle spielen. Hatte doch bereits Pasteur die erstaunliche Tatsache entdeckt, daß Spaltpilze zwischen den optischen Isomeren der Weinsäure streng zu unterscheiden wissen, und in großem Umfang trat dann die Bedeutung sterischer Konfigurationen für den Ablauf der Lebensprozesse hervor, als E. Fischer nachwies, daß stereoisomere Zuckerarten nur durch ganz bestimmte, für sie spezifische Fermente gespalten werden können. Auch

[1]) Fortschritte der Medizin, **XV**, 41, **1897** [*61*].

bei den Fermenten mußte also eine ganz spezifische Bindung an ihr Substrat ähnlich der des Toxins an die Zelle vorausgesetzt werden.

Eine Antifermentbildung war demnach im Sinne der Seitenkettentheorie zu erwarten, sofern nur im Organismus Rezeptoren vorausgesetzt werden durften, die zu den haptophoren Gruppen des Ferments eine spezifische Verwandtschaft besitzen.

Daß eine spezifische Antifermentbildung in der Tat möglich ist, hat dann Morgenroth[2]) im Jahre 1899 durch die gelungene Immunisierung gegen Lab und den gleichzeitigen Verfolg der Antilabkurve in seiner grundlegenden Arbeit aus Ehrlichs Institut nachgewiesen.

Es sind allerdings an dieser Stelle einige Vorgänger zu erwähnen, denen zum Teil von ganz anderen Gesichtspunkten ausgehend eine Immunisierung gegen Fermente gelang. In erster Linie ist hier Hildebrand zu nennen, der bereits im Jahre 1893 Kaninchen gegen die giftigen Wirkungen des Emulsins immunisierte und auch beobachtete, daß im immunisierten Tier die Einwirkung des Emulsins auf gleichzeitig injiziertes Amygdalin aufgehoben war. Doch fehlt in dieser in ihren Einzelheiten sehr interessanten Arbeit noch der Nachweis, daß die Antikörperwirkung wirklich eine spezifische war. Im Jahre 1898 hat dann v. Dungern unter dem Einfluß der Ehrlichschen Ideen immunisatorisch Antikörper gegen Bakterienproteasen dargestellt.

In voller Erkenntnis der theoretischen Bedeutung und in vieler Hinsicht zugleich abschließend wurde die Frage jedoch erst von Morgenroth in Angriff genommen. Zugleich ist die in diesen Versuchen angewandte Technik ein schöner Beweis für die Leistungsfähigkeit der von Ehrlich und seinen Schülern in die Biologie eingeführten quantitativen Methoden, die sich auch für weitere Fermentstudien fruchtbar gezeigt haben. Während es bis dahin einzig und allein üblich war, die Fermentmenge aus dem zeitlichen Verlauf der Fermentreaktion zu berechnen, bestimmte Morgenroth die kleinste Menge Ferment, welche noch imstande war, nach Ablauf einer bestimmten Zeit eine abgemessene Menge Milch zur Gerinnung zu bringen. Da aber das Labferment schon bei Körpertemperatur allmählich zerstört wird, ließ Morgenroth, um zu konstanten Resultaten zu gelangen, das Ferment auf die Milchmenge zunächst in der Kälte 20 Stunden einwirken und stellte dann das Gemisch für 2—3 Stunden in ein Wasserbad von 32°. Auch für die Auffindung dieser unerläßlichen Technik war eine Anschauung maßgebend, die sich aus der Seitenkettentheorie herleitete. Wie nämlich die Toxine nach Ehrlich aus einer haptophoren und einer labileren toxophoren Gruppe bestehen, so nahm Morgenroth an, daß auch die Labilität des Labenzyms auf die geringe Widerstandsfähigkeit der zymophoren Gruppe des Fermentmoleküls zurückzuführen sei,

[2]) Centr. f. Bakt. **XXVI**, 349, **1899** [*445*].

und deshalb ließ er die Bindung des Ferments an das Substrat, bei der ja die zymophore Gruppe nicht mitwirkt, in der Kälte vor sich gehen.

Nachdem so festgestellt war, daß ein Teil Lab noch in der 3millionenfachen Menge Milch Gerinnung hervorbrachte, wurden 5 ccm Kuhmilch zu etwa 2% mit dem Serum einer Ziege versetzt, die durch wiederholte Injektionen gegen das Labenzym immunisiert war, und dieser Mischung abfallende Labmengen zugefügt. Tatsächlich war nun in Gegenwart des Immunserums erst die 200fache Labmenge imstande, Gerinnung hervorzurufen, während normales Ziegenserum keine Wirkung hatte.

Allerdings war damit noch nicht mit Sicherheit erwiesen, daß diese Antifermentreaktion wirklich der Antitoxinwirkung an die Seite zu stellen sei. Denn schon Hammarsten hatte beobachtet, daß normales Pferdeserum die Labgerinnung hemmt und zwar in einer Weise, die nicht viel hinter den Morgenrothschen Ziegenimmunsera zurücksteht. Es war also immerhin denkbar, daß bei der Vorbehandlung mit Lab nur eine unspezifische Steigerung einer normalen Serumfunktion eintrat. Den Nachweis der Spezifität konnte nun Morgenroth[3]) in sehr interessanter Weise erbringen, indem er zeigte, daß sein durch Kälberlab erhaltenes Antilab gar nicht auf ein pflanzliches Lab, die Cynarase, einwirkte. Auf die große Bedeutung dieses Befundes für die Lehre von den Fermenten sei später eingegangen; hier sei nur hervorgehoben, daß damit tatsächlich der Beweis für einen der Toxin-Antitoxinreaktion analogen Vorgang erbracht war, dessen rein chemische Natur einen Zweifel nicht mehr aufkommen lassen konnte.

Spätere Untersuchungen von Loeb[4]) aus dem Ehrlichschen Institut haben auch eine Verschiedenheit der haptophoren Gruppen im tierischen und in einem bakteriellen Lab wahrscheinlich gemacht, das im Kulturfiltrat des Staphylococcus quadrigeminus nachgewiesen werden konnte. Während nämlich nach Morgenroth normales Ziegenserum gegen tierisches Lab Antilab nicht enthält, übte es gegenüber dem Bakterienlab eine sehr beträchtliche Antilabwirkung aus. Allerdings kann die Antikörperfunktion hier auch zu einer Verstärkung der Labwirkung führen. Die Erklärung dafür ist nach Loeb in der komplexen Konstitution des Bakterienfiltrates zu suchen. Wie Loeb zeigte, interferiert neben dem Lab noch ein tryptisches Ferment, das bei der Morgenrothschen Methode der Kältebindung ein Antagonist der Labwirkung ist. (Ähnliche Verhältnisse wurden auch in anderen Bakterienfiltraten und im Pankreatin gefunden.) Daraus ergibt sich, daß einerseits größere Kulturfiltratmengen im Gegensatz zu geringeren nicht laben („Unregel-

[3]) Centralbl. f. Bakt. **XXVII**, 721, **1900** [*446*].
[4]) Centralbl. f. Bakt. **XXXII**, 471, **1902** [*411*].

mäßige Reihe"), andererseits gewisse Serummengen nur antitryptisch wirken und so das die Labwirkung hemmende Trypsin eliminieren, während größere Serumdosen durch den gleichzeitigen Antilabgehalt die Labwirkung wieder aufheben.

Durch die Entdeckung des Antilabs war natürlich der Anstoß gegeben, auch bei anderen Fermenten nach Antifermenten zu suchen. Zunächst sei die ebenfalls aus Ehrlichs Institut hervorgegangene Arbeit von H. Sachs[5]) erwähnt, dem bei Gänsen eine Immunisierung gegen Pepsin gelang, eine Arbeit, die nach den von Pawlow aufgedeckten nahen Beziehungen zwischen Lab und Pepsin erneutes Interesse beanspruchen muß. Es gelang allerdings nicht, den Antifermentgehalt immunisatorisch derart zu steigern, wie es bei anderen Immunisierungsformen ohne weiteres gelingt. Es sind hierfür im Sinne Ehrlichs Regulationsvorgänge verantwortlich zu machen, welche, wie das Morgenroth (l. c. [2]) und Sachs (l. c. [5]) ausgeführt haben, die Hochtreibung oder die Immunisierung überhaupt vereiteln, besonders wenn im Organismus Rezeptoren vorhanden sind, die mit dem haptophoren Gruppen der Fermente übereinstimmen. Auch an die überwiegende Entstehung sessiler Rezeptoren wäre zu denken (Ehrlich und Morgenroth[6])). Das erstere Moment wird um so mehr zu befürchten sein, je näher verwandt die zur Immunisierung dienende Tierart dem Fermentspender ist, und von diesem Gesichtspunkte aus empfiehlt sich die Benutzung zoologisch fernstehender Tierarten.

In rascher Folge wurden dann Antikörper gegen Trypsin (Achalme), Urease (Moll), Lipase (Schütze), Laktase (Schütze), Leukoprotease (Jochmann), Hefetryptase (Hahn), Thrombase (Bordet und Gengou) u. a. Fermente dargestellt. Von großer theoretischer Bedeutung sind vor allem die Beobachtungen von Neuberg und Beitzke, nach denen ein Antiemulsinserum die Synthese eines Disaccharides aus d-Glykose und d-Galaktose zustande bringt. Dieser Befund, dem zufolge das Antiferment eine dem Ferment entgegengesetzte Wirkuung hervorbringen sollte, schien zunächst allen bekannten Vorstellungen über Immunitätsreaktionen zu widerstreiten. Nachdem sich aber immer mehr herausgestellt hat, daß die Fermente ganz allgemein bei geeigneter Versuchsanordnung auch Synthesen zustande bringen, so könnte sich, wie auch Ohta, Neubergs Schüler, neuerdings annimmt, die Beobachtung von Beitzke und Neuberg durch Fermentreste, die noch im Serum kreisen, in einfacher Weise erklären lassen.

Auf die Fermentwirkungen der Schlangengifte, gegen welche die Immunisierung leicht gelingt, und an deren Erforschung Ehrlich und seine Schule einen so hervorragenden Anteil haben, sei hier nur hingewiesen. Dieses Kapitel findet in dem Abschnitt „Tierische Toxine" besondere Besprechung (vgl. C, 9).

[5]) Fortschritte d. Med., **XX**, 425, **1902** [*539*].

[6]) Berl. klin. Wochenschr., H. 21/22. **1901** [*197*].

Korschun[7]) hat im Laboratorium Ehrlichs die Beziehungen zwischen Lab und dem Antilab des normalen Pferdeserums einer eingehenden Analyse unterzogen. Es zeigte sich, daß die Wirkung nicht etwa durch eine Kalkbindung vorgetäuscht wird. Wenn auch oxalsaures Natron die Labung durch Kalkentziehung verhindert, so verhält sich sich doch diese Labhemmung in verschiedener Hinsicht ganz anders wie die durch Serum. Da ferner durch Immunisieren einer Ziege die Gewinnung eines Anti-Antilabs gelang, so nimmt Korschun auch im normalen Pferdeserum ein echtes Antilab an. Außerdem enthält aber das Pferdeserum, wie Korschun gezeigt hat, eine zweite die Labwirkung hemmende Komponente, ein „Pseudo-Antilab", welche coctostabil und dialysabel ist. Für eine einwandfreie Analyse des normalen Antilabs ist daher die Verwendung von 48 Stunden lang dialysiertem Pferdeserum erforderlich.

Die Auffassung der Fermente als Antigene hat dann weitere Fragestellungen angeregt. Besitzen die Fermente eine haptophore und eine zymophore Gruppe, so wäre daran zu denken, daß die labile zymophore Gruppe isoliert zugrunde gehen könnte. Es müßten dann ähnlich den Toxoiden Zymoide entstehen, denen noch die Bindung an das Substrat, aber keine Fermentwirkung zukommt. Tatsächlich sind denn auch gewisse Hemmungserscheinungen, die erhitzte Fermentlösungen zeigen, von Korschun[8]) auf die Bildung solcher Zymoide zurückgeführt worden (s. a. die Arbeiten von Bearn und Cramer, Schwarz, v. Eisler, Jacoby). Nachdem schon früher von Myers (vgl. Morgenroth, l. c. [2]) und Bashford (vgl. Ehrlich[9])) im Frankfurter Institut versucht worden war, durch zerstörende Agenzien Labzymoide zu gewinnen, hat Korschun die Lablösungen durch poröse Kerzen filtriert. Die Filtrate wiesen dabei eine erheblich stärkere Abschwächung der direkten Labwirkung, als des zur Neutralisation erforderlichen Antilabbedarfs auf, d. h. bei stärkerem Abfall des Labungsvermögens war die Labmenge, welche zu einer bestimmten Serumdosis hinzugefügt, gerade wirkte, nur relativ gering gestiegen. Dieses Versuchsresultat erklärt sich nach Korschun durch das Vorhandensein von Labmodifikationen (Zymoiden) in der Lablösung, welche weniger leicht durch die Filterporen zurückgehalten werden, als die intakten Labmoleküle. Dabei läßt Korschun die Frage offen, ob es sich um Analoga der Toxoide im eigentlichen Sinne oder um den Ausdruck einer den Cytotoxinen entsprechenden komplexen Konstitution des Labs handelt.

[7]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, **XXXVI**, 141, **1902** [*389*].
[8]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, **XXXVII**, 366, **1903** [*390*].
[9]) XIII. Congrès international de médicine, Paris **1900** [*68*].

Wie man auch die Tatsachen deuten mag, so zeigen solche Befunde doch, wie sehr auch auf diesem Gebiet die Seitenkettentheorie als heuristisches Prinzip anregend gewirkt hat.

Nach der Ehrlichschen Seitenkettentheorie werden bekanntlich auch die Cytolysine als Toxine aufgefaßt, bei denen die haptophore und die toxophore Gruppe nicht fest miteinander verbunden sind, sondern sich auf getrennte Moleküle verteilen, die erst nach der Bindung der haptophoren Gruppe, des Ambozeptors, an die Zelle zusammen in Wirksamkeit treten. Die Analogie der Fermente und der Toxine mußte den Gedanken nahe legen, daß auch bei jenen derartig komplex gebaute Vertreter existieren. Es war daher kein Wunder, daß diese Frage eifrig diskutiert wurde, als Pawlow gefunden hatte, daß auch das Trypsin sich aus zwei an sich unwirksamen Stoffen zusammensetzt, dem in der Pankreasdrüse enthaltenen Trypsinogen und der Enterokinase des Darmsaftes. Wenn es auch nicht als erwiesen gelten kann, daß wirklich innerliche Beziehungen bestehen, so zeigt doch die umfangreiche Literatur über diesen Gegenstand, wie befruchtend auch hier die aus der Seitenkettentheorie sich ergebenden Fragestellungen gewirkt haben. Insbesondere stehen ja die bekannten Versuche Delezennes, in denen er nachwies, daß die Enterokinase wie ein Ambozeptor von Fibrin und Erythrocyten gebunden wird und diese dadurch erst der Einwirkung des Trypsinogens zugänglich macht, während andererseits das Trypsinogen selbst die roten Blutkörperchen nicht beeinflußt, in engster Beziehung zur Ambozeptor-Komplementtheorie von Ehrlich und Morgenroth.

Die Spezifität der Fermente hat eine immer wachsende Bedeutung für die Biologie gewonnen. Wir wissen heute, daß die Gleichheit oder Ähnlichkeit der chemischen Prozesse, die durch die Fermente ausgelöst werden, ihre Identität nicht verbürgt. Hat doch Jacoby gezeigt, daß die in den Organen vorhandenen und bei der Autolyse in Tätigkeit tretenden Proteasen trotz der sehr ähnlichen Spaltprodukte, die sie erzeugen, spezifisch streng voneinander geschieden werden können, indem das Leberferment nur Lebereiweiß, das Lungenferment nur Lungeneiweiß abbaut. Die neuen Arbeiten Abderhaldens und seiner Schüler lassen vermuten, daß diesen Tatsachen eine ungeahnte Bedeutung für die Diagnostik innerer Krankheiten zukommt. Gerade im Hinblick auf diesen in der Entwicklung begriffenen Zweig der experimentellen Fermentforschung erscheint die Tatsache von besonderer Bedeutung, daß zum ersten Male im Ehrlichschen Institut Morgenroth (vgl. auch die Arbeiten von Landsteiner über Antitrypsin) durch die Differenzierung des Labs von der Cynarase die spezifische Verschiedenheit zweier identisch funktionierender Fermente mittels der Immunitätsreaktion nachgewiesen hat.

15.

# L'hérédité de l'état réfractaire acquis.

Par

**C. Levaditi,**
Paris.

L'hérédité de l'état réfractaire acquis est un problème des plus intéressants. Préciser si l'immunité conférée artificiellement, véritable caractère acquis, est transmissible aux descendants, par le père, par la mère ou par les deux conjoints, c'est résoudre la question si discutée de la transmissibilité héréditaire des propriétés non innées. D'un autre côté, si l'on démontrait que l'immunité est réellement transmissible aux rejetons, on comprendrait plus facilement pourquoi certaines maladies infectieuses épidémiques s'atténuent ou même finissent par disparaître complètement avec le temps; ces maladies conféreraient un état réfractaire solide, lequel, étant héréditaire, mettrait les nouvelles générations à l'abri de l'infection.

Une telle question ne pouvait laisser indifférent un savant tel qu'Ehrlich, si curieux des choses de la nature. Des expériences antérieures, celles de Chauveau (Ann. Pasteur, 1888), d'Arloing, Cornevin et Thomas, entre autres, faites avec la bactéridie charbonneuse et le charbon symptomatique, montraient bien que les descendents des mères vaccinées jouissaient d'un certain état réfractaire; toutefois, enregistrer le fait, sans préciser le mécanisme de cette hérédité, ne pouvait satisfaire le grand biologiste auquel est dédié ce recueil. Ehrlich entreprend donc l'étude du problème, et dès le début, de la façon dont il pose la question et le choix qu'il fait des moyens les plus aptes à la résoudre, il se montre l'expérimentateur sagace, l'esprit ingénieux, le parfait observateur qu'il a toujours été. En effet, dans son premier travail[1]) sur la ricine et l'abrine, il se de-

[1]) Zeitschr. f. Hygiene, **XII**, 183, **1892** [*53*]; vgl. auch: Deutsche med. Woch., H. 22, **1892** [*54*].

mande lequel des trois modes suivants assurent la transmission héréditaire de l'état réfractaire:

a) Hérédité dans le sens ontogénétique du mot, c'est à dire transmission par le plasma germinatif du mâle ou de la femelle. Le spermatozoïde ou l'ovule sont le support des caractères acquis par l'un ou l'autre des générateurs; ils impriment ces caractères aux cellules issues de la segmentation de l'œuf fécondé, caractères qui se retrouvent chez le rejeton.

b) Hérédité par suite non pas d'une transmissibilité proprement dite, ayant, comme véhicule, le plasma germinatif, mais d'une vaccination active de l'embryon. L'antigène, administré à la mère, influence l'ovule, le vaccine, et avec lui, le rejeton. Il s'agit, dans cette hypothèse, d'une hérédité maternelle active, et nullement passive, comme dans le cas suivant.

c) Les caractères acquis par la mère sont transmis aux descendents par l'intermédiaire des anticorps élaborés par elle. Ces anticorps passent du sang de la mère dans celui du rejeton, soit à travers le placenta, soit par le lait. Ce mode de transmission, exclusivement maternel, rentre donc dans le cadre de l'immunité passive.

Quant aux moyens expérimentaux pouvant aider à la solution du problème, Ehrlich les choisit tels qu'ils puissent exclure toute interprétation erronée. La vaccination des procréateurs par des cultures vivantes ou des virus vaccins ne lui semble pas utilisable. Comment décider par un tel procédé, si l'immunité des rejetons n'est pas due à une légère infection pendant la vie intra-utérine, infection provoquée par quelques germes ayant réussi à traverser le filtre placentaire? Il faut s'adresser à des antigènes dépourvus de vie propre, et comme, parmi ces antigènes, les toxines microbiennes ou végétales se prêtent à un dosage exact, comme, d'autre part, leur anticorps respectifs, les antitoxines et les antitoxalbumines, sont assez facilement décelables dans le sang ou le lait, c'est à ce genre de principes vaccinants que s'adresse le savant de Francfort.

Ehrlich entreprend donc des expériences sur la transmission héréditaire de l'état réfractaire acquis contre l'abrine et la ricine. Des souris sont nourries avec des doses progressivement croissantes d'abrine et, au moment où elles atteignent un assez haut degré d'immunité, on fait les accouplements de façon à ce que l'on puisse disposer de rejetons issus de père vacciné et de mère normale, ou de père normal et de mère vaccinée. L'élevage une fois obtenu, on essaye la résistance des rejetons à l'égard de quantités rigoureusement dosées d'abrine. Les résultats sont d'une précision mathématique: les petits

issus de père réfractaire et de mère normale ne montrent aucune résistance appréciable; seuls sont vaccinés les rejetons dont la mère a été immunisée. De ces données Ehrlich conclue que „das Idioplasma des Sperma nicht imstande ist die Immunität zu übertragen".

En est-il de même de l'idioplasma ovulaire? Ici l'expérience est plus complexe et les résultats demendent à être interprétés. En les analysant, Ehrlich est frappé du fait que les rejetons issus de mère réfractaire, tout en se montrant immuns à un moment donné de leur vie extrautérine (un mois et demi environ après la naissance), cessent de l'être quelque temps après (commencement du troisième mois). Comment expliquer cette disparition si précoce des propriétés acquises héréditairement?

A l'époque où se placent ces recherches (1892), la notion de l'immunité active et de l'état réfractaire passif avait acquis droit de cité dans la science. Or, Ehrlich ne peut pas admettre qu'une immunité cellulaire active puisse cesser aussi rapidement, sans causes apparentes, aussi que nous venons de le voir chez les rejetons issus de mères vaccinées contre l'abrine. Par contre, cette disparition s'explique aisemment si l'on admet que la resistance anti-abrinique de ces rejetons rentre dans le cadre de l'immunité passive. C'est à cette interprétation que s'arrête Ehrlich. Pour lui, les mères vaccinées confèrent l'état réfractaire aux petits, en leur transmettant des anticorps spécifiques, soit par la voie sanguine et placentaire, soit par le lait.

Laquelle de ces deux voies joue le rôle le plus important? Certainement le lait, répond Ehrlich, attendu que: $1^0$ les rejetons perdent leur resistance quelque temps après la cessation de l'allaitement; $2^0$ le lait renferme des anticorps (anti-abrine, anti-ricine, antitoxine tétanique); $3^0$ des petites souris, issues de générateurs normaux, mises en nourrice chez des mères vaccinées, acquièrent l'état réfractaire. Des recherches complémentaires, faités en collaboration avec Brieger[2]), montrent le passage des anticorps antitétaniques dans le lait des chèvres immunisées et permettent à Ehrlich de préciser la courbe de la sécrétion de ces anticorps. De l'ensemble de ces données, Ehrlich formule la conclusion suivante, aujourd'hui classique: „daß ebensowenig, wie das Spermatozoon, die Eizelle Immunität übertragen kann, und daß somit eine erbliche Übertragung der Immunität hier im eigentlichen Sinne des Wortes nicht stattfindet".

Comme si ces expériences concordantes ne suffisaient pas pour

[2]) Zeitschr. f. Hygiene, **XIII**, 336, **1893** [*171*, *172*].

entraîner la conviction, Ehrlich, en collaboration avec Hübener[3]), en relatent d'autres, faites avec la toxine tétanique, tout aussi démonstratives que les précédentes. Ces recherches ont été faites sur le cobaye et la souris, avec une toxine dont on avait rigoureusement établi, au préalable, la D.L. et la dosis certe efficax, cela par unités de $\mu$ = microgramme ($^1/_{1000}$ de milligrame). Les animaux sont vaccinés avec cette toxine, puis Ehrlich fait des accouplements pareils à ceux qu'il avait réalisé avec les animaux rendus réfractaires à l'abrine et à la ricine. Les protocoles de ces recherches, si difficiles à réaliser, sont un modèle de travail expérimental bien fait. Quant aux déductions, elles sont les mêmes que pour l'abrine et la ricine: le père ne transmet pas l'état réfractaire, la mère seule confère l'immunité aux rejetons, mais cette immunité, essentiellement passive, disparaît quelque temps après la naissance (deux à trois mois).

Il n'est pas dans notre intention d'entreprendre ici l'exposé détaillé des nombreux travaux qui sont venus confirmer les principales conclusions d'Ehrlich. Un tel exposé a déjà été fait d'une façon magistrale par Morgenroth, un des collaborateurs les plus notoires du savant de Francfort, dans le „Handbuch der pathogenen Mikroorganismen" (2me édition, T. II, 1913 [en collaboration avec Braun]); nous ne saurions rien y ajouter de nouveau. Qu'il s'agisse des expériences de Wernicke (d'après Morgenroth) faites avec la toxine diphtérique, de celles de Vaillard (Ann. Pasteur, 1896), entreprises avec la tétanotoxine, le vibrion cholérique et le choléra des poules, ou bien des recherches de Dieudonné (Festschrift, Würzburg 1899), réalisées avec le vibrion cholérique, partout, et quelle que soit l'espèce animale employée, le résultat est le même, conforme aux conclusions d'Ehrlich. Ainsi, pour ne citer que Wernicke, ses conclusions sont les suivantes: „daß bei der Diphtherie eine Immunität vom Vater nicht übertragen wird; nur die Mutter ist imstande, dieselbe zu übermitteln. Die übertragene Immunität ist bei den Enkeln nicht mehr zu konstatieren, scheint aber für die Kinder längere Zeit zu bestehen" (3 mois). Il n'y a que la question de la transmissibilité de cette immunité passive par le lait qui a rencontré çà et là des contradicteurs. Or, ce n'est là qu'une question de détail. En effet, ce qui, au point de vue biologique, nous importe le plus, ce n'est pas de préciser si c'est le lait ou le sang qui est le véhicule des anticorps, dans cette transmission héréditaire de l'état réfractaire, mais le fait que cet état, d'ordre purement passif, n'est nullement un caractère acquis, transmissible héréditairement, dans le sens ontogénétique du mot.

[3]) Zeitschr. f. Hygiene, **XVIII**, 51, **1894** [*182*].

Quant à la transmission des anticorps (hémolysines, agglutinines, précipitines etc.) de la mère au fœtus, il nous est impossible de résumer ici les nombreux travaux qui s'y rapportent (Ehrlich et Morgenroth[4]), v. Dungern (Münch. med. Wochenschr., Nr. 6, 1910), Chambrelent et Philippe (d'après Morgenroth), Stäubli (Centralbl. f. Bakteriol., 33, 1903), Schumacher (Zeitschr. f. Hygiene, 37, 1901) etc. Ce qui est intéressant, c'est de constater, avec Klemperer (Arch. f. experim. Pathol., Bd. 4), Kitt (Monatsh. f. prakt. Tierheilk., Bd. 4) et Sclavo, que certains de ces anticorps peuvent être décelés dans les œufs pondus par les poules vaccinées avec l'antigène correspondent, de voir, avec Lustig (Centralbl. f. allgem. Pathol., Bd. 15, 1904) que la loi d'Ehrlich s'applique également non seulement aux mammifères, mais aussi aux oiseaux (non transmissibilité héréditaire proprement dite de l'état réfractaire acquis). Enfin, citons, comme recherches confirmatives, celles qui se rapportent à l'anaphylaxie et qui ont été relatées par Otto[5]), Gay et Southardt (Journ. med. Research., T. 16, 1907), Rosenau et Anderson (d'après Morgenroth), Vaughan et Wheeler (Journ. of inf. diseases, 1907); l'hypersensibilité parait liée à la transmission des anticorps de la mère anaphylactisée aux rejetons.

En résumé, ce qui se dégage de l'œuvre d'Ehrlich, dans ce domaine si intéressant de l'hérédité de l'immunité, c'est que les caractères acquis ne sont pas transmissibles héréditairement, par l'intermédiaire de l'idioplasme spermatique ou ovulaire. Si les descendants jouissent d'un certain état réfractaire, celui-ci n'est pas une qualité inhérente aux éléments cellulaires; éminemment passive, l'immunité transmise aux rejetons n'existe qu'autant que les anticorps, venus de la mère à travers le placenta, ou par la sécrétion lactée, circulent dans leurs humeurs.

Cette découverte, que nous aimerions voir désigner sous le nom de „loi d'Ehrlich", vient s'ajouter aux innombrables fait précis et aux conceptions générales dont le savant de Francfort a doté la science, pour constituer un titre de gloire auquel tous les expérimentateurs doivent rendre hommage.

---

[4]) Berliner klin. Wochenschr., H. 21, **1900** [*194*].

[5]) v. Leuthold-Gedenkschrift, **I**, 153, **1906** [*498*].

D.

# Geschwulstforschung.

1.

# Einleitender Überblick.

Von

**Vinzenz Czerny,**
Heidelberg.

Je mehr man sich in die Probleme der Krebsforschung vertieft, um so schwieriger werden dieselben. Es bestätigt sich des Dichters Wort, daß dem Menschen nichts Vollkommenes wird. Welche Mühe haben die Forscher darauf angewendet, das Entstehen der malignen Geschwülste zu ergründen, seitdem durch Virchow die histologische Untersuchung und Klassifizierung erschlossen wurde. Die Arbeiten von Thiersch und Waldeyer stellten das Einteilungsprinzip auf eine entwicklungsgeschichtliche Basis. Es zeigte sich aber bald, daß zahlreiche Geschwülste nur schwer in das Schema einzureihen sind. Die alveolären Sarkome, die Endotheliome, manche kleinzelligen infiltrierten Karzinome und manches andere blieb in der Histogenese zweifelhaft. Als dauernde Errungenschaft dieser Forschungsperiode darf die Tatsache gelten, daß die Zellen der malignen Geschwülste Abkömmlinge der normalen Körperzellen sind, deren Abweichung von der Norm — die unbegrenzte Wucherungsfähigkeit, infiltrierendes Wachstum, atypische Kernteilung, Neigung zur Verschleppung und Metastasenbildung — durch einen vorläufig unbekannten Reiz verursacht wird. Ebenso wurde durch anatomische und chirurgische Erfahrungen festgestellt, daß das Leiden zunächst lokal beginnt und erst allmählich auf dem Wege der Lymph- und Blutbahnen generalisiert wird. Daher die Regel, den Krebs so früh als möglich, solange er noch lokal ist, zu zerstören und dadurch zu heilen. Die Cohnheimsche Theorie, daß es embryonal versprengte Keime sind, welche die pontentielle Wachstumsenergie behalten haben und durch irgendeinen Anstoß zur Entfaltung derselben veranlaßt werden, was dann die maligne Geschwulstbildung ausmache, gilt nur für einen beschränkten Kreis von

teratoiden Geschwülsten. Man muß immer noch fragen, was ist es, das die schlummernden Kräfte der versprengten Keime zu so atypischem Wachstum erweckt.

Die Biologie der Geschwülste konnte erst in Angriff genommen werden, seitdem man Tiertumoren studierte, und seitdem wir in dem Jensenschen übertragbaren Mäusekrebs ein den experimentellen Studien in großem Maßstabe zugängliches Material haben. Mit einem Stabe von ausgezeichneten Mitarbeitern hat Ehrlich den Großbetrieb dieser experimentellen Geschwulstforschung organisiert und die Erfahrungen der Bakteriologie für die Krebsforschung nutzbar gemacht. Es ist weltbekannt, wie er durch zahlreiche Überimpfungen, Auswahl der virulentesten Fälle allmählich Tumorstämme heranzüchtete, die bei der Übertragung fast mit 100% angingen und mit einer unheimlichen Schnelligkeit heranwuchsen, so daß sie nach Ehrlichs Berechnung binnen 60 Generationen einen Kubus von 1000 Billionen Kilometern Kantenlänge einnehmen könnten. Bei der sorgfältigen Kontrolle der aufeinander folgenden Impfgenerationen wurde die Umwandlung der Karzinome in Sarkome beobachtet, die nach Ehrlichs Überzeugung weder durch Metaplasie noch durch die Annahme einer primären latenten Mischgeschwulst erklärt werden kann. Er meinte, daß die Sarkombildung durch den Reiz der chemisch irgendwie alterierten Krebszellen ausgelöst werde. Dieser Reiz müsse mit einer besonderen individuellen Empfindlichkeit der Bindegewebszellen des Wirtstieres zusammenfallen. Durch die verschiedene Thermolabilität der Krebs- und Sarkomzellen ist es gelungen, diese Geschwulststämme zu isolieren. Von zirka 1000 Spontantumoren, welche im Ehrlichschen Institute zur Weiterimpfung benutzt worden sind, gelang es, Tumorstämme von verschiedener Virulenz zu gewinnen, welche sich ausgezeichnet für die Immunitätsstudien eigneten, die den Schwerpunkt von Ehrlichs Tätigkeit auf dem Gebiete der Krebsforschung bildeten. Durch Vorimpfung mit den fast avirulenten hämorrhagischen Spontangeschwülsten konnte er die Resistenz gegen virulente Tumoren fast bis zur absoluten steigern. Sie setzt in acht bis vierzehn Tagen ein und kann sich monatelang halten. Da die Vorimpfung mit Karzinom auch gegen Sarkom schützt, konnte er von einer Panimmunität sprechen. Wichtig waren die Erfahrungen, daß man auch mit Blut, mit Mäuseembryonen, ja vielleicht mit artfremdem Gewebe eine Geschwulstresistenz erzeugen konnte.

Mit großer Energie wurde stets im Ehrlichschen Laboratorium der Behauptung entgegengetreten, daß die der experimentellen Forschung hauptsächlich dienenden Mäuse- und Rattentumoren keine echten Krebse seien, daß sie nicht infiltrativ wüchsen und keine Metastasen bildeten. Andererseits haben aber Ehrlich und seine Schule stets gewisse biologische

Differenzen zwischen Tier- und Menschengeschwülsten anerkannt, die eine bedingungslose Übertragung der experimentell gewonnenen Tatsachen auf die menschliche Pathologie ausschlossen.

Das Hauptinteresse in seinen Karzinomstudien wandte Ehrlich der von ihm begründeten Theorie der athreptischen Immunität zu. Der innere Grund für diese Vorliebe dürfte darin zu finden sein, daß in dem Gedanken der Athrepsie die Bedeutung der Verteilung der Nährstoffe im Organismus zu besonders scharfem Ausdruck gelangt, ein Prinzip, das einen Grundpfeiler des von Ehrlich errichteten wissenschaftlichen Baues bildet. Mag die athreptische Immunität in manchen Einzelpunkten noch Gegenstand der Kontroverse sein, so hat zweifellos der Gedanke der Athrepsie einen sogar über das engere Gebiet der Geschwulstlehre hinausgehenden Einfluß erlangt.

In den zahlreichen Einzeluntersuchungen, die Ehrlich teils selbst ausgeführt, teils angeregt hat, ist das Bestreben deutlich erkennbar, den als richtig befundenen Forschungsprinzipien weiteste Geltung zu verschaffen. So bedeutet seine Tätigkeit auch auf dem Gebiete der Krebsforschung nicht nur eine Bereicherung unseres positiven Wissens, sondern in fast noch höherem Grade eine grundlegende methodische Förderung, die auf die ganze Entwicklung der experimentellen Geschwulstlehre entscheidend eingewirkt hat.

Natürlich waren hier seinem Schaffen gewisse, durch eine notwendige Beschränkung auf die rein experimentelle Forschung bedingte Grenzen gesetzt. Nachdem die Fundamente gelegt waren und nunmehr die wissenschaftliche Tätigkeit sich mehr der Lösung von Einzelproblemen zuwandte, schien der Augenblick gekommen, auch denjenigen Fragen erhöhte Beachtung zu schenken, deren Bearbeitung eine direkte praktische Nutzanwendung an krebskranken Menschen, sei es in diagnostischer oder therapeutischer Beziehung zuließ. Wenn Ehrlich seine Kraft nicht auch dieser Seite der Geschwulstforschung zugewendet hat, so liegt das lediglich daran, daß hier ein erfolgreiches Arbeiten nur durch die Verbindung wissenschaftlicher Laboratorien mit klinischen Anstalten gewährleistet schien. Er konnte in dem Rahmen der für ihn bestehenden Arbeitsmöglichkeit nur rein wissenschaftliche Pionierarbeit leisten und mußte die Lösung aller eine praktische Nutzanwendung verheißenden Probleme den Forschungsstätten überlassen, die auch eine klinische Beobachtung gestatteten. So trat von selbst eine gewisse Arbeitsteilung ein. Ich darf wohl in diesem Zusammenhang darauf hinweisen, daß aus den genannten Gründen dem von mir ins Leben gerufenen Samariterhaus, in dem die glückliche Vereinigung von theoretischer Forschung und klinischer Beobachtung ermöglicht ist, die wichtige Aufgabe zufiel, neben der Beobachtung ätio-

logischer Probleme, den diagnostischen und kurativen Bestrebungen erhöhte Beachtung zu schenken.

Überhaupt treten diese Probleme in der neuesten Phase der Krebsforschung immer mehr in den Vordergrund. Die bemerkenswerten Resultate, die neuerdings in der Ätiologie, ich darf nur den Namen Fibigers erwähnen, in der Diagnostik und vor allem in der Chemotherapie der Geschwülste erzielt worden sind, vervollständigen das Bild des augenblicklichen Standes der Krebsforschung, für dessen Gestaltung nicht zum wenigsten die fruchtbringende Tätigkeit Ehrlichs maßgebend gewesen ist. Möge es dem hochverdienten Forscher noch lange vergönnt sein, auch in der Ergründung der Geschwulstprobleme die Fackel voranzutragen, damit wir den Ariadnefaden in dem Labyrinthe nicht verlieren.

2.

# Ergebnisse der experimentellen Geschwulstforschung

## (mit Ausschluß der athreptischen Immunität).

Von

**H. Apolant,**

Frankfurt a. M.

Unter den Gebieten, denen Ehrlich sein schöpferisches Interesse zugewendet hat, nimmt die Krebsforschung insofern eine etwas isolierte Stellung ein, als sie allein, wenigstens zunächst, sich nicht organisch dem Gesamtwerk einfügte, dessen logischer, durch einen einzigen Grundgedanken geleiteter Aufbau von der ersten Mastzellenarbeit bis zu den chemotherapeutischen Studien der letzten Jahre in so markanter Weise gekennzeichnet ist. In der Tat entsprang die Beschäftigung mit dem Krebsproblem weniger dem freien Entschluß Ehrlichs, als vielmehr dem Umstand, daß ihm auf die Initiative des verstorbenen Ministerialdirektors Althoff, sowie des früheren Frankfurter Oberbürgermeisters Dr. Adickes von einer Reihe hochherziger Spender eine nicht unbeträchtliche Summe für die Erforschung des Krebses zur Verfügung gestellt wurde. Dieses Anerbieten, dem er sich nicht entziehen zu dürfen glaubte, fiel in eine Zeit, in der das Interesse weitester Fach- und Laienkreise an der Karzinomforschung einen vorher niemals gesehenen Grad erreicht hatte. Mit der Gründung von Spezialinstituten, Komitees, Landesorganisationen, Fachorganen, denen später auch internationale Konferenzen folgten, wurde ein sich allmählich über fast alle zivilisierten Staaten erstreckender Apparat geschaffen, der auf den verschiedensten Wegen die Lösung des großen Problems erstrebte.

Es dürfte für den Entschluß Ehrlichs, seine Kraft auch dem Krebsproblem zu widmen, entscheidend gewesen sein, daß um die Wende des Jahrhunderts, und zwar gerade zu einer Zeit, in der der Streit um die parasitäre Natur des Krebses ungewöhnlich heftige Formen

angenommen hatte, die viele Dezennien zurückverfolgbaren Bemühungen, das Experiment in den Dienst der Krebsforschung zu stellen, durch Jensen in ein aussichtsvolles Stadium gelangt waren.

Bis zu der Arbeit des dänischen Forschers beschränkten sich die Versuche wesentlich auf die Feststellung der Übertragbarkeit des Krebses innerhalb und außerhalb der Spezies. Die wichtigsten Etappen dieser Forschungen sind durch die Untersuchungen Hanaus beim Rattenkarzinom, Moraus beim Mäusekarzinom und Loebs beim Rattensarkom gekennzeichnet. Jensen war jedoch der erste, dem die Übertragbarkeit nicht Selbstzweck war, sondern Veranlassung zu tiefer gehenden experimentellen Studien gab. Es tut der Bedeutung der Jensenschen Arbeit keinen Abbruch, daß durch sie mehr Probleme aufgeworfen als gelöst wurden, daß sie gewissermaßen ein Programm für die Weiterforschung auf Jahre hinaus entwarf.

Als Ehrlich im Herbst 1901 die Krebsabteilung an den ihm unterstellten Institut einrichtete, stand ihm zunächst kein experimentell verwendbares Tumormaterial zur Verfügung. Bis zur Erlangung eines solchen betraute er seine damaligen Mitarbeiter v. Prowazek und Weidenreich mit der Bearbeitung aktueller histologischer Fragen, während es die Aufgabe des Veterinärarztes Dr. Sticker[1]) war, in ausgedehnten Versuchsreihen die Verimpfbarkeit von Geschwülsten des Menschen und größerer Tiere auf die verschiedensten Spezies festzustellen, Versuche, welche die absolute Unmöglichkeit der Tumorübertragung auf die fremde Tierart erwiesen.

Die histologischen Untersuchungen von v. Prowazek und Weidenreich verfolgten ein doppeltes Ziel. Einerseits sollte Wesen und Bedeutung der sog. Plimmerschen Körperchen resp. der mit ihnen wohl identischen und damals viel diskutierten Leydenschen Vogelaugen und Feinbergschen Parasiten ermittelt und andererseits der Versuch unternommen werden, durch besondere Fixations- und Färbemethoden spezielle histochemische Reaktionen der Krebszellen zu erhalten. Nur die erstere dieser Fragen wurde nach dem Weggang von v. Prowazek und Weidenreich durch ihre Nachfolger Embden und Apolant fortgesetzt und zum Abschluß gebracht. Die ausgedehnten Untersuchungen[2])[3]) gaben das seither wohl allgemein anerkannte Resultat, daß die für Parasiten gehaltenen Körperchen im wesentlichen Degenerationsformen der Krebszellen darstellen.

[1]) Zeitschr. f. Krebsforschung, **I**, 413; **1904** [*591*].
[2]) Zeitschr. f. Hyg., **XLII**, 353; **1903** [*241*].
[3]) Zeitschr. f. Krebsforschung, **III**, 579; **1905** [*242*].

In ähnlicher Richtung bewegen sich die Untersuchungen Apolants[4]) über die Geflügelpocke, deren evidente Infektiosität zusammen mit der hier sehr gesteigerten Epithelproliferation ein genaueres Studium der für diese Krankheit typischen und vielfach als Parasiten angesprochenen, intracellulären Bildungen wünschenswert erscheinen ließ.

Auch hier vertrat Apolant mit Entschiedenheit die Anschauung, daß alle histologisch nachweisbaren Körperchen Degenerationsprodukte sind, während gleichzeitig Marx und Sticker[5]) die Filtrierbarkeit des die Ansteckung vermittelnden Virus durch Berkefeldfilter nachweisen konnten. Dabei ergaben sich als weitere interessante Tatsachen die erhebliche Resistenz des Virus, die Immunität nach einmaligen Überstehen der Erkrankung, sowie die Abschwächung[6]) des Virus der Taubenpocke nach einmaliger Hühnerpassage, also eine ähnliche Veränderung, wie sie das Virus der Variola nach Übertragung auf das Rind erleidet.

Ein völliger Umschwung trat in der Arbeitsrichtung ein, als das Institut im Frühjahr 1903 in den Besitz der ersten transplantablen Mäusegeschwülste kam. Der Gang, den die experimentelle Krebsforschung bis dahin genommen hatte, überzeugte Ehrlich davon, daß entscheidende Fortschritte nur dann zu erzielen wären, wenn die weiteren Untersuchungen auf die breiteste Grundlage gestellt würden. Mit diesem konsequent durchgeführten Prinzip ist er der Schöpfer der Riesenbetriebe geworden, die sich als überaus fruchtbar erwiesen und anderen Spezialstätten der Krebsforschung als Muster gedient haben.

Zunächst galt es, ein möglichst großes Material an spontan entstandenen Geschwülsten zu sammeln, um sowohl die histologischen wie biologischen Eigenschaften dieser Neubildungen, vor allem ihre Übertragbarkeit eingehend studieren zu können. Wie erfolgreich Ehrlich in dieser Beziehung war, zeigt die Tatsache, daß in einem Zeitraum von rund 12 Jahren über 1000 Tumormäuse dem Institut eingeliefert worden sind. Zugleich ergibt sich hieraus, daß die Mäusegeschwülste, die noch zur Zeit der Jensenschen Arbeit als Seltenheiten betrachtet wurden, in Wirklichkeit eine relativ häufige Erscheinung sind.

Der Wert eines so großen Materials zeigte sich sehr bald. Bestanden über die Natur dieser Tumoren früher keine klaren Vorstellungen, so genügte allein der Umstand, daß die Neubildungen so gut wie ausschließlich unter der Haut alter Weibchen gefunden wurden, um den Verdacht, daß sie von der Mamma ausgehen, fast zur Gewißheit zu erheben. In der Tat hat Apolant[7]), [7a]), [7b]), [7c]) durch ein-

[4]) Virchows Arch., **CLXXIV**, 86; **1903** [*219*].
[5]) Deutsche med. Wochenschr., H. 50; **1902** [*435*].
[6]) Ebenda, H. 5; **1903** [*436*].
[7]) Arb. a. d. Inst. f. exp. Ther., Frankfurt a. M., H. 1, S. 7; **1906** [*223*].

gehende Untersuchungen mehrerer 100 Geschwülste den bindenden Beweis für die Richtigkeit der vorher nur als Vermutung ausgesprochenen Ansicht erbringen können, daß es sich um echte epitheliale Tumoren der Mamma handelt, und zwar nach seiner ziemlich allgemein akzeptierten Anschauung, um eine trotz der strukturellen Variationen einheitliche Gruppe, die alle Übergänge vom einfachen Adenom bis zu den verschiedensten Formen der Karzinome aufweist.

Eine besondere Eigentümlichkeit dieser Tumoren ist ihre außerordentlich große Neigung zu Hämorrhagien. Die zarten Gefäße des interstitiellen Gewebes erweitern sich zu sinuösen Bildungen, deren Wand jedoch stets den kapillaren Charakter behält und daher leicht zerreißt. Die so entstehenden Hämorrhagien können einen großen Umfang annehmen und in extremen Fällen zu hämorrhagischen Cysten führen. Als Biologen interessierten Ehrlich an den bis ins einzelne von Apolant festgestellten anatomischen Tatsachen die Ursachen und biologischen Konsequenzen. Erstere sah er[8]) in angiotaktischen Eigenschaften der Tumorzellen, die für ihr Wachstum einer reichlichen Gefäßbildung bedürfen. Werden die Zellen in der Möglichkeit, diese angiotaktische Fähigkeit auszuüben, beschränkt, wie gewöhnlich durch die Impfung, so ist das Impfresultat negativ. Demgemäß berechnete Ehrlich die Impfausbeute der hämorrhagischen Geschwülste nach seinen Erfahrungen auf nicht mehr als $^1/_2$ %, während die der nichthämorrhagischen sich auf etwa 10 % beläuft. Spätere Untersucher bestritten zwar auf Grund ihrer mit der schonenderen Stückchenimpfung erhaltenen Resultate die Ausnahmestellung der hämorrhagischen Tumoren, doch dokumentiert sich dieselbe in der Regel auf das deutlichste in der Zahl der erfolgreichen Einzelimpfungen.

Eine sehr interessante Bestätigung erlangten die Ehrlichschen Anschauungen bei dem von ihm beschriebenen Chondrom.[9]) Diese ursprünglich dem Netz adhärente, wahrscheinlich durch einseitiges Wuchern der knorpeligen Komponente entstandene teratoide Neubildung, stellt in der Literatur ein Unikum dar, schon insofern, als die Grundsubstanz, abgesehen von den speziellen Zellkapseln, nie die histochemische Reaktion des echten Knorpels gab. Die Geschwulst wird daher wohl besser als Myxochondrosarkom bezeichnet, in dem der hämorrhagische Charakter schon in den frühesten Stadien sehr aus-

[7a]) Zentralbl. f. allgem. Pathol., **XIX**, 667; **1908** [*227*].
[7b]) Deutsche med. Wochenschr., H. 51; **1908** [*228*].
[7c]) Berliner klin. Wochenschr., H. 11; **1912** [*235*].
[8]) Arb. a. d. Inst. f. exp. Ther. Frankfurt a. M., H. 1, S. 63; **1906** [*91*].
[9]) Ebenda, S. 75; **1906** [*92*].

gesprochen ist. Ehrlich zeigte nun, daß die Zellen dieser Geschwulst, die bei der subkutanen Impfung im Gegensatz zu den hämorrhagischen Karzinomen, eine maximale Ausbeute von 100% gibt, unter gewissen Bedingungen ihre angiotaktische Fähigkeit und damit die Möglichkeit eines dauernden Wachstums verlieren. In sehr eklatanter Weise zeigt sich dieser Verlust nach intraperitonealer Impfung. Sehr häufig, wenn auch, wie Goldmann (vgl. Ehrlich)[10]) gezeigt hat, nicht immer, bleibt unter diesen Umständen die Gefäßbildung aus. Die geimpften Zellen wachsen infolgedessen nur beschränkte Zeit und bilden kleine, frei in der Peritonealhöhle liegende, den Reiskörperchen ähnelnde Knötchen, die frühzeitig degenerieren. Aber auch nach subkutaner Impfung kann die Angiotaxis verloren gehen, wenn die Knorpelzellen vor der Impfung durch abnorme Temperatureinflüsse geschädigt oder auf ein Tier geimpft wurden, daß durch die von Ehrlich entdeckte aktive Geschwulstimmunisierung gegen das Angehen einer Impfung resistent gemacht worden waren. Wohl kann der Tumor unter diesen Umständen noch wachsen, aber gefäßlos, weiß und nur sehr begrenzte Zeit. Wir werden in anderem Zusammenhang auf diese Verhältnisse noch zurückkommen.

Mit der Erlangung eines großen Materials an Spontantumoren war dem Bestreben Ehrlichs, die Forschung auf eine möglichst breite Grundlage zu stellen, nur zum kleinen Teil Genüge geleistet. Erheblich wichtiger war die Schaffung eines eigentlichen Forschungsmaterials, d. h. eines Materials an Impftumoren, das ein erfolgreiches Arbeiten erst ermöglichte. Ehrlich (l. c. [10]) erkannte klar, daß Wachstum und Impfausbeute der Spontantumoren hierfür nicht genügten, ja daß die ganze Zukunft der Forschung von der Möglichkeit abhing, die Züchtung der Geschwulstzellen analog der in der Bakteriologie realisierten Bakterienzüchtung zu gestalten. Er gab diesen Beziehungen einen besonders scharfen Ausdruck, indem er geradezu von einer Tumorvirulenz sprach, ein Begriff, in welchem die zwei für die Forschung wichtigsten Eigenschaften der Geschwulstzelle, ihre Übertragbarkeit und Proliferationsenergie zusammengefaßt wurden. Freilich ist er sich stets bewußt gewesen, daß die die Tumorvirulenz bedingenden Faktoren zwar in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle ein gleiches Verhalten aufweisen, so daß der stärkeren Wuchskraft auch die größere Impfausbeute und dem langsameren Wachstum die schwierigere Übertragbarkeit zu entsprechen pflegt, daß diese Parallelität jedoch nicht ausnahmslos gilt. So ist das von ihm beschriebene Chondrom ein Beispiel für die Kombination maximaler Impfausbeute mit mäßig starkem, ja

[10]) Zeitschr. f. ärztl. Fortbildung, **III**, Nr. 7; **1906** [88].

zuweilen direkt langsamem Wachstum, während sich andererseits bei dem im Ehrlichschen Institut gezüchteten Rattensarkom zu gewissen Perioden ein rapides Wuchern mit einer recht begrenzten Impfausbeute vereint findet. Das sind indessen, wie bemerkt, Ausnahmen.

Die Steigerung der Tumorvirulenz war mithin eine Lebensfrage für die gesamte experimentelle Krebsforschung. Die Lösung dieses wichtigen Problems gelang Ehrlich in relativ einfacher Weise dadurch, daß er aus jeder Serie die bestwachsenden Tumoren nach sorgfältiger Ausschälung aller nekrotischen Partien verimpfen ließ. Hierdurch erreichte er vielfach schon in erstaunlich kurzer Zeit eine maximale Steigerung der Impfausbeute, also ein Angehen in 100%. Interessanterweise beschränkt sich diese Steigerung aber nicht nur auf die Übertragbarkeit, sondern erstreckt sich auch auf die Wuchsenergie, so daß bereits in wenigen Tagen fühlbare Knoten entstehen, die in 4 Wochen die Größe des Tieres erreichen können. Als selbstverständliche Konsequenz einer derartigen Erhöhung der Proliferationskraft ergibt sich die Notwendigkeit einer fortgesetzten Verkürzung des zwischen zwei aufeinanderfolgenden Serien liegenden Zeitintervalls, das sich schließlich auf 8—10 Tage reduziert. Hiermit ist die maximale Grenze der Wachstumssteigerung erreicht, die unter sonst gleichbleibenden Verhältnissen keine weitere Veränderung erleidet. Ehrlich hat stets die Anschauung vertreten, daß eine spontane Abschwächung der Tumorvirulenz nicht vorkommt, und daß gelegentliche Schwankungen auf äußere, bei Geschwulstimpfungen unvermeidbare Faktoren zu beziehen sind.

Um eine Vorstellung von der Größe der einer vollvirulenten Tumorzelle innewohnenden Proliferationsenergie zu geben, führte Ehrlich (vgl. Ehrlich u. Apolant)[11]) seinerzeit eine Rechnung aus, deren Berechtigung nicht bestritten werden kann, da sie von einer im Anfang tatsächlich realisierten Voraussetzung ausgeht. Diese Voraussetzung ist, daß eine Impfung innerhalb 8 Tagen zu einem 1 ccm großen Tumor führt, der seinerseits auf 10 Mäuse verimpft, auf jedem dieser Tiere in derselben Zeit eine gleich große Geschwulst erzeugt. Werden diese Impfungen in der Idee alle 8 Tage weiter geführt, so ergibt sich nach x Wochen ein Geschwulstkubus von $10^x$ ccm. Schon bei der 60. Generation, bis zu der die Züchtung seinerzeit in dem virulentesten Stamm fortgesetzt war, entsprach die berechnete Geschwulstmasse einem Kubus von 1000 Billionen Kilometer Kantenlänge, eine Strecke, die der Lichtstrahl erst in über 100 Jahren durchmißt. Mit der 312. Generation, die nunmehr in demselben Stamm innerhalb 10 Jahren erreicht ist, dürfte ein Kubus entstanden sein, der das gesamte Weltall erfüllt, soweit es astronomisch erforscht ist.

Den Sinn dieser Berechnung sah Ehrlich in der zahlenmäßigen Festlegung der für unser Vorstellungsvermögen völlig unfaßbaren potentiellen

[11]) Berliner klin. Wochenschr., H. 28; **1905** [*153*].

Proliferationsenergie, die sehr wesentlich den distinktiven Charakter der Bösartigkeit mitbestimmt und in einer so klaren Weise aus der einfach pathologisch-anatomischen Betrachtung nicht erschlossen werden kann.

Das Phänomen der Virulenzsteigerung ist allseitig bestätigt worden und darf als die Regel angesehen werden. Freilich gibt es auch gelegentliche Ausnahmen. Ehrlich selbst vermißte es bei dem auf der grauen Maus gezüchteten Karzinomstamm 4, der infolgedessen in etwa demselben Zeitraum, in dem das virulenteste Sarkom die 312. Impfgeneration erreicht hat, erst bis zur 33. Generation bei durchschnittlich 25 % Impfausbeute gezüchtet worden ist. Auch bei dem Chondrom kam die Virulenzsteigerung nicht deutlich zur Erscheinung, da hier die Impfausbeute von vorneherein sehr hoch war, und das Wachstumstempo nicht wesentlich zugenommen hat. Solche vereinzelte Ausnahmen ändern jedoch nichts an der Tatsache, daß wir in den maximal virulenten Tumorstämmen das wichtigste Material der experimentellen Forschung zu erblicken haben, die nach dem Ausspruch Ehrlichs hier dieselbe Rolle spielen wie die hochvirulenten Bakterienstämme in der Bakteriologie.

Die tiefgehenden biologischen Differenzen, die sich schon im Verhalten zur Virulenzsteigerung zwischen den einzelnen Geschwulststämmen dokumentieren, treten nicht minder stark in der Resistenz gegen schädigende Einflüsse zutage. Wir verdanken Ehrlich[12]) in dieser Beziehung interessante Untersuchungen, die zu erstaunlichen Resultaten geführt haben. Er beschränkte sich auf die Feststellung des Einflusses abnormer Temperaturen, da diese die leichteste und bequemste Abstufung gestatten.

Nach den Ermittlungen von Jensen, denen diejenigen Loebs im allgemeinen entsprechen, sind Geschwulstzellen gegen höhere Temperaturen erheblich empfindlicher als gegen tiefe. So fand er als oberen Grenzwert einen nur nach wenigen Minuten währenden Aufenthalt bei 46°, als unteren einen ebenso langen bei — 18°. Davon weichen nun Ehrlichs Angaben erheblich ab. Zwar war die obere Grenze für die Karzinome und Sarkome ungefähr die gleiche, dagegen wuchs das Chondrom noch nach einstündiger Erwärmung auf 50°. Viel erheblicher sind aber die Differenzen in der Bestimmung des unteren Grenzwertes. Sowohl Karzinom wie Sarkom vertragen anstandslos einen 48 stündigen Aufenthalt bei — 25—30°. Ja in einem Falle ging allerdings nur eine von 60 Impfungen mit einem Karzinommaterial an, das volle 2 Jahre bei — 8—10° aufbewahrt worden war. Ehrlich fügt den Zweifel hinzu, ob hiermit schon die Grenze erreicht ist, da

[12]) Zeitschr. f. Krebsforsch., V, 65; **1907** [95].

bei dem Auftauen keinerlei Vorsichtsmaßregeln angewendet wurden. Noch resistenter sind die Chondromzellen, deren Wuchskraft selbst durch einen 3 tägigen Aufenthalt bei der Temperatnr der flüssigen Luft nicht völlig vernicht wurde, wenngleich das Wachstum nur auf Tage beschränkt blieb, und der Verlust der angiotaktischen Fähigkeit die starke biologische Schädigung der Zellen offenbarte.

Die experimentelle Verwendung abnormer Temperaturen hat in zwei von Ehrlich angeregten Arbeiten Haalands (vgl. Ehrlich, Apolant und Haaland)[13]) und Apolants[14]) zu weiteren biologisch interessanten Resultaten geführt, die jedoch erst nach Besprechung anderer Forschungsergebnisse erwähnt werden können.

Während in der menschlichen Pathologie die Geschichte einer Geschwulst mit dem Tode des Trägers ihr natürliches Ende findet, dehnt sich in der experimentellen Geschwulstlehre das Studium der individuellen Neubildung zu einer Tumorstammgeschichte aus. Hierdurch treten Probleme in den Vordergrund, die beim Menschen nur gelegentlich und in besonders günstigen Fällen Gegenstand der Untersuchung werden. So entstand die Frage, ob biologischen Änderungen, wie sie z. B. in der Virulenzsteigerung zutage treten, auch histologische entsprechen. Die hierauf gerichteten Untersuchungen von Ehrlich und Apolant lassen sich dahin zusammenfassen, daß ein Geschwulststamm im allgemeinen die Eigenschaften des Ausgangstumors beibehält, so daß gewisse individuelle Stammverschiedenheiten bestehen, die dem Kenner die Diagnose auf den ersten Blick ermöglichen. Das von Apolant[15]) beschriebene Osteosarkom z. B., das seine ursprüngliche osteoplastische Eigenschaft in den Impfserien völlig verloren hat, unterscheidet sich durch seine Neigung zum areolären Bau durchgreifend von dem polymorphzelligen Sarkom des Stammes 7. Auch die einzelnen Karzinomstämme differieren mehr oder weniger voneinander. Andererseits hat Apolant (l. c. [7]) schon früh darauf hingewiesen, daß die länger gezüchteten Karzinome unverkennbar einem bestimmten Typus zustreben, den er als Carcinoma reticulatum bezeichnet hat. Welche Momente für die gelegentlich auftretenden Baudifferenzen maßgebend sind, läßt sich im einzelnen noch nicht völlig übersehen. Zweifellos spielt das Wachstumstempo eine erhebliche Rolle, indem die weniger virulenten Tumoren dem Typus des Adenoma malignum, die stark wuchernden dem des Markschwammes ähneln.

[13]) Berliner klin. Wochenschr., H. 2; **1906** [*158*].
[14]) Zeitschr. f. Krebsforsch., **VI**, 251; **1908** [*226*].
[15]) Arch. f. Dermatol. u. Syphilis, **CXIII**, 39; **1912** [*237*].

Apolant[16]) glaubt auch die Resistenzverhältnisse des Wirtstieres für den histologischen Bau mit verantwortlich machen zu müssen, da er in mehreren Fällen bei immunisierten Tieren einen ausgesprochenen Rückschlag der Struktur des Carcinoma solidum in die mehr acinöse des Adenoma malignum beobachtet hat. Sicherlich sind hiermit alle Möglichkeiten nicht erschöpft. Und gerade für die durchgreifendsten Strukturänderungen sind wir vorläufig noch auf Hypothesen angewiesen. Hierher gehört zunächst die merkwürdige Veränderung, welche längere Zeit hindurch in dem Karzinomstamm 11 des Ehrlichschen Materials beobachtet wurde (vgl. Apolant)[17]). Dieser Tumor nahm in den späteren Generationen ein übrigens auch an den Stämmen anderer Institute beobachteten peritheliomähnlichen Charakter an, indem sich die Zellen mit Vorliebe um zentrale Gefäße gruppierten. Dabei traten in so hohem Grade spindelige Formationen auf, daß auf dem Pathologenkongreß in Kiel ernsthaft die Frage eines Spindelzellensarkoms ventiliert wurde. Die weitere Beobachtung ergab jedoch die Unrichtigkeit dieser Annahme, da plötzlich wieder ein Umschlag in die karzinomatöse Struktur eintrat, die sich dann dauernd in reiner Form erhalten hat.

Ganz anders verhält es sich nun mit der zuerst von Ehrlich und Apolant (l. c. [11]), vgl. auch Apolant, Verhandl. der Pathol. Ges. Meran 1905) beschriebenen fundamentalen Strukturänderung, die sie kurz als sekundäre Sarkombildung bezeichnet haben. Sie machten die erste Beobachtung dieses merkwürdigen Prozesses in der 10. Generation eines typischen Mammakarzinoms. Die Veränderung begann damit, daß das bei diesen Mäusegeschwülsten gewöhnlich schlecht ausgebildete Stroma zellreich wurde und breite Straßen eines aus großen Spindelzellen zusammengesetzten Gewebes bildete, in dessen Maschen die Karzinomnester gelagert waren. Das Bild entsprach vollkommen dem aus der menschlichen Pathologie bekannten Carcinoma sarcomatodes. In den weiteren Generationen nahm der Karzinomanteil dauernd ab und wurde schließlich durch das überwuchernde Sarkom vollkommen eliminiert. So resultierte ein reines Spindelzellensarkom, das unverändert dauernd fortgezüchtet werden konnte.

Begreiflicherweise stieß die damals noch völlig neue Beobachtung auf manche Zweifel, auch bei Forschern, die sich später durch eigene Erfahrungen von deren Richtigkeit überzeugten (s. Ehrlich und Apolant[17a]). Da jedoch Ehrlich und Apolant (l. c. [13]) selbst

[16]) Münchener med. Wochenschr., H. 35; **1907** [*225*].

[17]) Arch. f. mikr. Anat., **LXXVIII**, 144; **1911** [*231*].

[17a]) Berliner klin. Wochenschr., H. 21; **1906** [*154*].

sehr bald zwei weitere Fälle publizieren konnten, in denen ein polymorphzelliges Sarkom gebildet wurde, und da weitere Bestätigungen von den verschiedensten Seiten nicht lange auf sich warten ließen, so war an der Tatsache selbst nicht mehr zu zweifeln. Diskutiert wurde nur noch über die Auffassung des Prozesses. Von vornherein lehnten Ehrlich und Apolant die metaplastische Umwandlung der Karzinomin die Sarkomzelle als indiskutierbar ab, zumal auch die scharfe histologische Abgrenzung der beiden Komponenten jeden Übergang ausschloß. Ebenso scharf wiesen sie die von mancher Seite noch bis in die neueste Zeit vertretene Anschauung zurück[17b]), daß es sich bei diesen Tumoren um primäre Mischgeschwülste handelt, deren eine Komponente zunächst latent geblieben und unter besonderen Bedingungen zur Entwicklung gelangt ist. Es schien unbegreiflich, wie solche im Primärtumor sicherlich nur in sehr geringer Zahl vorhandene latente Sarkomzellen durch mehr als 60 Impfgenerationen erhalten bleiben sollen, zumal wenn man bedenkt, wie geringe Mengen zur Impfung verwendet werden, und ein wie kleiner Teil dieser geimpften Zellen wirklich zur Weiterentwicklung gelangt. Es ist keine Stütze für diese Hypothese, daß in sehr seltenen Fällen, von denen Ehrlich und Apolant[17c]) selbst zwei beschrieben haben, tatsächlich primäre Karzinosarkome bei der Maus beobachtet werden. Zeigen doch die verschiedenen kasuistischen Mitteilungen hinsichtlich des Zeitpunktes, in dem die Mischgeschwulst auftritt, überhaupt die größten Differenzen. Am einfachsten erklärt sich der Prozeß mit der Hypothese Ehrlichs, daß die Sarkombildung durch den Reiz der chemisch irgendwie alterierten Krebszellen ausgelöst wird, ein Vorgang, der zu sehr verschiedenen Zeitpunkten der Stammesgeschichte und gelegentlich schon in der Primärgeschwulst eintreten kann. Durchaus in Übereinstimmung mit dieser Theorie steht die lange bekannte Tatsache, daß die Krebszellen, wie aus dem Verhalten in den Metastasen hervorgeht, auch auf die Art der Stromabildung einen bestimmenden Einfluß ausüben. Ehrlich faßte den Vorgang jedoch von vornherein als einen komplexen auf, der nur durch das Zusammentreffen eines von der Krebszelle ausgehenden Reizes mit einer besonderen individuellen Empfindlichkeit der Bindegewebszellen des Wirtstieres zustande kommen kann. Die Annahme einer derartigen individuellen Disposition, vergleichbar etwa der beim Menschen beobachteten Neigung zur Keloidbildung, beruht auf der auch von anderer Seite bestätigten Erfahrung, daß die Sarkombildung gewöhnlich nicht bei allen Tieren einer Serie auftritt.

[17b]) Zentralbl. f. allgem. Pathol., **XVII**, 513; **1906** [*155*].

[17c]) Berliner klin. Wochenschr., H. 44; **1907** [*156*].

Besteht die Ehrlichsche Hypothese zu Recht, so stellt die sekundäre Sarkombildung den ersten Fall einer von unserem Willen freilich unabhängigen künstlichen Erzeugung eines malignen Tumors dar, da das Sarkom ja nicht aus überpflanzten Geschwulstzellen, sondern aus gesunden Gewebszellen des Impftieres entsteht und erst erfolgreich weiter übertragen werden kann, wenn die spezifische Umwandlung in eine maligne Zelle erfolgt ist.

Ebenso wie in dem zeitlichen Auftreten variieren die einzelnen Beobachtungen auch in der Dauer des Mischtumorstadiums. Während in dem einen Fall das Karzinom schon in 1—2 Generationen völlig eliminiert ist, hält sich in dem anderen das Carcinoma sarcomatodes als solches viele Impfgenerationen hindurch, wenngleich auch hier schließlich, wie bisher fast immer, die Bildung eines reinen Sarkoms konstatiert worden ist. Dieses lange Verharren auf dem Stadium der Mischgeschwulst bot eine willkommene Gelegenheit zu vergleichenden Studien über den schädlichen Einfluß höherer Temperaturen auf die einzelnen Tumorkomponenten. In der Tat konnte Haaland (l. c. [13]), der auf Ehrlichs Veranlassung diese Studien ausführte, durch vorsichtig abgestufte Erwärmungen nachweisen, daß im allgemeinen das Karzinom gegen höhere Temperaturen empfindlicher ist als das Sarkom, so daß durch die Erwärmung des Impfbreies eine schnellere Elimination der ersteren Komponente erzielt wurde. Allerdings erlitt auch der sarkomatöse Anteil eine in dem Auftreten von Riesenzellen erkennbare biologische Schädigung. In einem Fall resultierte aber aus diesen Versuchen auch eine Eliminierung des Sarkoms, also ein Reinkarzinom. Natürlich bot die Weiterzüchtung dieses neugewonnenen Karzinoms ein besonderes Interesse im Hinblick auf eine etwaige Wiederholung der Sarkomentwicklung. Dieselbe trat jedoch nicht ein, weil, wie Ehrlich vermutete, der Tumor infolge der Erwärmung eine in dem differenten Wachstum sich deutlich manifestierende biologische Änderung erlitten hatte.

In einer ebenfalls singulären Beobachtung (l. c. [12]) ergaben die Erwärmungsversuche ein anderes ebenso interessantes wie instruktives Resultat. Während in der Regel, wie erwähnt, die eine Komponente die andere verdrängt, führte die Erwärmung, freilich nur ein einziges Mal, zu einer vollkommenen Trennung der vorher in der Form des Carcinoma sarcomatodes vereinten Geschwulstanteile. Der neu gewachsene Tumor bestand also zur Hälfte aus einem Reinkarzinom und zur Hälfte aus einem Reinsarkom. Ehrlich sah in diesem Phänomen eine abermalige Analogie zwischen Geschwulstzellen- und Bakterienzüchtung und erklärte es folgendermaßen: Will man aus einem Bak-

teriengemisch die einzelnen Arten isolieren, so wird eine geeignete Verdünnung auf Platten gegossen. Der Verdünnung entspricht im Falle der Geschwulstzellenzüchtung die Erwärmung, durch die die meisten Zellen abgetötet werden, so daß unter Umständen nur sehr wenige isoliert zur Weiterentwicklung gelangen. Betrifft eine solche Isolierung zufällig in verschiedenen Bezirken gelegene Sarkom- und Karzinomzellen, so können beide Arten gesondert voneinander proliferieren. So erklärt sich in einfacher Weise das zuerst anscheinend schwer deutbare histologische Bild.

Aus der Beobachtung der sekundären Sarkombildung ergaben sich aber noch andere interessante Probleme, deren Bearbeitung Apolant (l. c. [14]) übernahm. Es entstand die Frage, ob Mischgeschwülste auch künstlich durch Mischung der einzelnen Komponenten erzeugt werden können. Die Lösung dieses Problems wurde zu einer Zeit in Angriff genommen, in der die Virulenz der einzelnen Stämme außerordentlich verschieden war. Nach der von Ehrlich inzwischen entwickelten Theorie der athreptischen Immunität, die Gegenstand einer besonderen Besprechung sein wird, bestand die Wahrscheinlichkeit, daß bei der Mischung zweier Stämme von sehr ungleicher Proliferationsenergie der schwächere von dem stärkeren völlig überwuchert werden würde. In der Tat war das Resultat der Sarkom-Karzinommischung stets ein Reinsarkom. Durch abgestufte Kälteeinwirkung auf das Sarkom gelang es jedoch Apolant, einen Virulenzausgleich herbeizuführen, derart, daß der Impftumor nunmehr stets den Bau des Carcinoma sarcomatodes zeigte. Mithin amalgierten sich unter diesen Verhältnissen die beiden Komponenten zu dem auch spontan vorkommenden und einen bestimmten Typus repräsentierenden Mischtumor. Ein ganz anderes Resultat ergaben die Mischungen von Karzinom resp. Sarkom einerseits und Chondrom andererseits, ebenfalls nach entsprechendem Ausgleich ihrer Virulenzen. Wohl kamen auch hier die einzelnen Geschwulstarten zur Entwicklung, aber es blieb stets bei einem getrennten Wachstum nebeneinander, ohne die geringste Amalgamierung zu einem einheitlichen Geschwulsttypus.

Neben dem rein wissenschaftlichen Interesse, das die Beobachtung der sekundären Sarkombildung und die sich anschließenden experimentellen Forschungen darboten, darf ihre Bedeutung für die menschliche Pathologie nicht übersehen werden, denn sicherlich hat durch diese Studien das Verständnis der Karzinosarkome des Menschen, sowie das Interesse an diesen Tumoren beträchtlich zugenommen, eine Tatsache, die weiterhin dazu geführt hat, das früher etwas lockere Band

zwischen der pathologischen Anatomie und der experimentellen Geschwulstlehre enger zu knüpfen.

Trotz der vielen positiven Befunde und fruchtbaren Anregungen, die die Karzinomforschung, wie sich aus der bisherigen Darstellung ergibt, Ehrlich verdankt, liegt doch der Schwerpunkt seiner Tätigkeit auch hier auf dem Immunitätsgebiet. In dem vorliegenden Kapitel soll nur diejenige Immunitätsform besprochen werden, die man der Kürze halber gewöhnlich als aktive Geschwulstimmunität, korrekter jedoch als aktiv erzeugte Resistenz gegen das Angehen einer Geschwulstimpfung bezeichnet. Ehrlich war zwar nicht der erste, der das Problem der aktiven Geschwulstimmunität aufgeworfen hat, aber er war der erste, der es in dem soeben definierten Sinne zielbewußt gelöst hat.

Die überraschenden Erfolge der Cytolysinforschung hatten begreiflicherweise, noch bevor es eine eigentliche experimentelle Krebsforschung gab, den Versuch nahe gelegt, die aktive resp. passive Immunisierung zu kurativen Zwecken anzuwenden. Bei der ungenügenden experimentellen Grundlage aller dieser Bestrebungen konnte das Ausbleiben eines Erfolges nicht überraschen. Erst durch die Jensensche Arbeit war die Möglichkeit einer exakten Bearbeitung des Problems in Aussicht gestellt; mehr freilich zunächst noch nicht. Denn wenn auch Jensen die Frage aufwirft, ob der negative Ausfall einer zweiten Impfung bei den vergeblich von ihm vorgeimpften Mäusen auf einer natürlichen oder durch die erste Impfung erzeugten aktiven Resistenz beruhe, so war er doch nicht in der Lage, diese Frage exakt zu beantworten, weil er eben nur mit ein und demselben Stamm von annähernd konstanter Impfausbeute experimentierte.

Ehrlich (l. c. [10]) löste das Problem mit einem Schlage, indem er sich der der Bakteriologie entlehnten Methode der Immunisierung mit abgeschwächtem Material bediente. Er benutzte jedoch keine künstlich abgeschwächten Tumoren, die für diese Zwecke wenig brauchbar sind, sondern die schon von Natur fast oder vollkommen avirulenten hämorrhagischen Spontangeschwülste. Dieser Gedanke war ein überaus glücklicher, da vielfach bereits mit einer einzigen Injektion von 0,2 bis 0,3 ccm in etwa 50—80% eine Resistenz gegen das Angehen hochvirulenter Tumoren erzielt werden konnte, die sich durch Wiederholung der Vorimpfung zu einer absoluten steigern ließ. Die so erzielte Resistenz setzt in etwa 8—14 Tagen ein und kann sich Wochen und Monate erhalten. Sie ist von vornherein größer, wenn die erfolglose Vorimpfung nicht mit avirulentem, sondern mit virulentem Material gemacht wurde, das aus irgendwelchen Gründen nicht anging. Auf derartigen von Ehrlich „Nuller" genannten Tieren geht eine Nachimpfung fast niemals an, auch dann nicht, wenn dieselbe mit einem Stamm von 100% Ausbeute, die Vorimpfung dagegen mit einem von nur 50% Ausbeute gemacht wurde.

Die Mannigfaltigkeit des Ehrlich zur Verfügung stehenden Geschwulstmaterials ermöglichte es ihm (l. c. [12]), den Umfang der aktiven Geschwulstimmunität genauer festzustellen. Daß sich dieselbe auf die verschiedenen Karzinomstämme in ungefähr gleicher Weise erstrecken würde, war vorauszusehen, da ja die vor- und nachgeimpften Tumoren, wie anatomisch festgestellt war, derselben Geschwulstklasse angehören. Von fundamentaler Wichtigkeit war aber der bald erbrachte Nachweis, daß die Vorimpfung mit Karzinom auch gegen Sarkom schützte und umgekehrt die Nuller aus Sarkomserien auch für eine nachträgliche Karzinomimpfung unempfänglich waren. Ehrlich sprach daher in diesem Rahmen von einer Panimmunität, deren Vorhandensein zwar später von anderer Seite etwas eingeschränkt, im wesentlichen aber anerkannt wurde.

Die Grenzen der Panimmunität sind aber noch weitere. Zunächst konnte Ehrlich zeigen, daß die durch Karzinom erzeugte Resistenz, namentlich wenn sie durch vielfache Impfungen hochgetrieben war, sich, wenigstens partiell, auch gegen das Chondrom erstreckte, partiell insofern, als gewöhnlich das Angehen nicht völlig verhindert, sondern die Latenzperiode nur deutlich verlängert und auch das spätere Wachstum entsprechend verlangsamt wurde. Dabei zeigte sich vielfach das schon erwähnte interessante Phänomen, daß die Zellen ihre normale angiotaktische Fähigkeit verloren haben.

Weitere Studien ergaben nun aber, daß es zum Zustandekommen der aktiven Resistenz gar keiner Geschwulstvorimpfung bedarf, sondern daß der gleiche Effekt auch mit der Vorimpfung normalen lebenden Gewebes erzielt wird. Bashford hat diesen Beweis für das Blut erbracht. Schöne[18]) [18a]) [18b]), dessen Untersuchungen im Ehrlichschen Institut durch die weiten Grenzen der Panimmunität veranlaßt worden waren, bediente sich verschiedener Organe (Leber, Hoden, Mamma), vor allem aber arteigener und artfremder Embryonen, in der doppelten Erwägung, einmal, daß embryonale Zellen den Tumorzellen biologisch vielleicht näher stehen könnten, als die des erwachsenen Organismus, und zweitens, daß bei eventuellen Differenzen in der immunisierenden Kraft der einzelnen Organe die Verwendung des ganzen Tieres offenkundige Vorteile bot. Nach seinen Resultaten ist die Immunität nach Vorbehandlung mit Mäuseembryonen recht erheblich, nach einer solchen mit Mäuseleber und -hoden dagegen wesentlich geringer. Er schließt sogar die Möglichkeit nicht aus, daß die durch die letzteren Organe bedingte Resistenz-

[18]) Münchener med. Wochenschr., H. 51; **1906** [*572*].
[18a]) Gesellsch. Deutsch. Naturf., **1907** [*573*].
[18b]) Deutsche Gesellsch. f. Chirurgie, **1907** [*574*].

erhöhung lediglich auf dem Blutgehalt beruht. Einen nur schwachen Effekt hatte die Vorbehandlung mit Hühnerembryonen, während in dem allerdings nur einmal angestellten Versuch mit einem Mammakarzinom des Menschen ein immerhin nicht unbeträchtlicher Schutz erzielt wurde.

Die beiden von Schöne behandelten Fragen der Organimmunisierung einerseits und der artfremden Immunisierung andererseits sind später in einer von Ehrlich inspirierten Arbeit Moreschis[19]) noch von einem anderen Gesichtspunkt aus beleuchtet worden. Nachdem die immunisierende Kraft normaler Organe festgestellt war, lag es bei der Natur der Mäusekarzinome nahe, die resistenzerhöhende Wirkung der normalen resp. laktierenden Brustdrüse zu untersuchen. Moreschi kam bei der Prüfung dieser Frage zu dem interessanten Resultat, daß der Effekt je nach den zur Nachimpfung verwandten Karzinomstämmen wechselt. Während gegenüber den Stämmen 5 und 11 eine deutliche Immunität eintrat, zeigte der Stamm 144 nach 10—12tägiger Vorbehandlung durch Mammagewebe eine ausgesprochene Wachstumsbegünstigung, wobei allerdings zu bemerken ist, daß wir wohl berechtigt sind, die Begünstigung als Phase der Immunität anzusehen. Eine derartige Beziehung und damit die Abhängigkeit des Resultats von dem zischen Vor- und Nachimpfung verflossenen Zeitintervall ergibt sich ohne weiteres aus den Immunisierungsversuchen mit Rattenmilchdrüse. Dieselben zeigten eine deutliche Wachstumsbegünstigung bei einem Intervall von 9—15 Tagen, dagegen eine Resistenz bei größerem Intervall von 30—37 Tagen. Vorbehandlung mit Rattensarkom immunisierte deutlich, eine solche mit Meerschweinchenmamma nur wenig. Den geringen immunisatorischen Effekt der Mäusemilchdrüse gegen das Mäusesarkom erklärt Moreschi mit der außerordentlichen Virulenz dieses Tumors.

Wichtig ist bei diesen Versuchen vor allem die Bestätigung der von Schöne noch sehr vorsichtig formulierten Möglichkeit, auch mit artfremdem Gewebe eine Geschwulstresistenz zu erzeugen.

An dieser Stelle sei übrigens erwähnt, daß von Apolant[20]) eine echte Anaphylaxie, d. h. der von Yamanouchi behauptete akute Tod von Geschwulsttieren nach einer intraperitonealen Nachimpfung von Geschwulstmaterial nicht bestätigt werden konnte.

Es hat sich im Laufe der Zeit immer deutlicher herausgestellt, daß die aktive Resistenzerhöhung des Organismus gegen das Angehen einer Geschwulstimpfung nicht auf einer einfachen Antikörperbildung beruhen kann, da es bisher auf keine Weise geglückt ist, Antikörper einwandfrei nachzuweisen. Es war daher und ist noch heute Aufgabe

[19]) Zeitschr. f. Immunitätsforsch., **II**, 675; **1909** [*443*].
[20]) Ebenda, **III**, 108; **1909** [*229*].

der Forschung, sowohl das Tatsachenmaterial nach Möglichkeit zu vermehren, sowie auch durch Nachprüfung fremder Angaben eine für den Fortschritt unerläßliche Kritik zu üben. In beiden Richtungen war die Krebsabteilung des Ehrlichschen Institutes in den letzten Jahren tätig. Stark beteiligte sich auch an diesen Arbeiten der leider so früh der Wissenschaft entrissene Freiburger Chirurg Goldmann, dessen Arbeiten aus dem letzten Dezennium auf das innigste mit dem Lebenswerk Ehrlichs verknüpft sind.

Von den hier zu erwähnenden Fragen betrifft die erste eine Angabe Woglooms, daß es möglich sei, eine aktive Geschwulstresistenz durch Vorbehandlung mit der körpereigenen Milz zu erzielen. Die Bedeutung dieses Problems leuchtet ein. Ausgedehnte Nachprüfungen von Marks und Apolant[21]) zeigten jedoch die absolute Unrichtigkeit der Woglomschen Angabe, die dieser dann auch in einer alsbald erschienenen Arbeit zurücknahm (vgl. hierzu auch Apolant[22]).

Soweit sich die Untersuchungen Goldmanns auf die aktive Geschwulstimmunität beziehen, bilden sie eine Kritik und Widerlegung der Theorien von Russell und da Fano. Ersterer glaubte, gestützt auf die Angaben von Jensen und Bashford, daß das Stroma der Impfgeschwülste vom Wirtstier geliefert wird, die Ursache der Resistenz in einer Umstimmung des Organismus finden zu sollen, der die Fähigkeit verloren hat, auf den von den Tumorzellen ausgehenden fibroplastischen und angioplastischen Reiz zu reagieren. Demgegenüber stellte Goldmann (Beitr. z. klin. Chirurgie, Bd. 72, 1911) mit seiner virtuos beherrschten Injektionstechnik fest, daß auch bei immunen Tieren der Impfung eine mächtige Gefäßbildung folgt, ohne daß es zu einer Tumorentwicklung kommt. Den Versuch da Fanos, die Immunität durch zelluläre Analyse zu erklären und die Hauptrolle bei dem Vorgang den Lymphocyten und Plasmazellen zuzuweisen, die sich nur bei refraktären Tieren in größerer Anzahl finden, widerlegte Goldmann mittels der auf Anregung Ehrlichs von ihm ausgebildeten vitalen Färbung mit dem Nachweis einer starken Plasmazellanhäufung auch in der Peripherie erfolgreicher intraperitonealer Impfungen.

In neuerer Zeit gewinnen die Beziehungen der Milz zum Geschwulstwachstum steigende Bedeutung. Den mannigfachen sich auf diesen Gegenstand beziehenden Angaben mehrerer Autoren konnte Apolant[23]) als Resultat seiner eigenen Versuche hinzufügen, daß die Milz beim Zustandekommen der Resistenz unzweifelhaft hervorragend beteiligt

[21]) Zeitschr. f. Immunitätsforsch., **X**, 159; **1911** [*243*].
[22]) Ebenda, **XII**, 472; **1912** [*236*].
[23]) Ebenda, **XVII**, 219; **1913** [*238*].

ist, da die Immunisierung durch Milzexstirpation in sehr bemerkenswerter Weise erschwert resp. ganz verhindert wurde (vgl. hierzu auch Apolant[24]).

Unter den Publikationen aus der Krebsabteilung des Ehrlichschen Institutes nehmen die rein kurativen Bestrebungen nur einen bescheidenen Raum ein. Allerdings betrafen die zeitlich ersten experimentellen Arbeiten Apolants[25][26] gerade die Heilung des Mäusekarzinoms durch Radiumstrahlen. Apolant berichtete in denselben sowohl über die Heilerfolge, sowie über die bei dem Heilungsprozeß sich abspielenden histologischen Vorgänge, die denen beim Menschen beobachteten vollkommen entsprechen.

In neuerer Zeit veröffentlichte Caan[27] die recht günstigen Resultate seiner Lokalbehandlung des Mäusekarzinoms und Rattensarkoms mit einem unreinen Thoriumchlorid-Präparat, das Spuren von Mesothorium enthielt.

Erwähnt sei in diesem Zusammenhang auch die von Goldmann (Beitr. zur klin. Chirurgie, Bd. 74, 1912) beobachtete Wachstumshemmung der Mäusetumoren, insbesondere des Chondroms nach Injektion des ihm von Ehrlich zur Verfügung gestellten Ikterogens. Diese Substanz erzeugt schwere mit dem Leben des Tieres gerade noch verträgliche Lebernekrosen, die weiterhin zu stark cirrhotischen Prozessen führen. Da Goldmann durch seine vitalen Färbungsversuche Beziehungen threptischer Natur zwischen Leber und Geschwulstwachstum festgestellt zu haben glaubte, die mit den zwischen Placenta und Embryo bestehenden in Analogie zu bringen sind, so erklärt er die Wachstumshemmung mit einer diese threptischen Beziehungen schädigenden Arsenwirkung. Es bleibt jedoch eine offene Frage, wieweit hierbei eine aktive Immunisierung durch resorbiertes Lebergewebe vorliegt.

Neben den Mäuse- und Rattengeschwülsten, die das hauptsächlichste Forschungsobjekt bilden, ließ Ehrlich durch Sticker[28][29] (l. c. [1]) eine Geschwulstart nach allen Richtungen eingehend studieren, die durch ihre schon seit etwa 2 Dezennien bekannt gewesenen klinischen Besonderheiten, eine eigenartige Stellung einnimmt. Es handelt sich hier um Tumoren des Hundes, die bei sarkomatösem Bau eine hohe Infektiosität besitzen und nach Art der venerischen Erkrankungen fast

[24]) Zeitschr. f. Immunitätsforsch., **XVIII**, 337; **1913** [*239*].
[25]) Deutsche med. Wochenschr., H. 13; **1904** [*220*].
[26]) Ebenda, H. 31; **1904** [*221*].
[27]) Münchener med. Wochenschr., H. 20; **1913** [*327*].
[28]) Med. Klinik, H. 24; **1905** [*592*].
[29]) Zeitschr. f. Krebsforsch., **IV**, 227; **1906** [*593*].

mit Sicherheit durch den Coitus übertragen werden. Die von Sticker sehr gründlich untersuchte Resistenz der Zellen gegen chemische, thermische und mechanische Einflüsse ergab keine Anhaltspunkte für das Vorhandensein von Parasiten. Auch die Metastasenbildung, sowie die genau ermittelten Immunitätsverhältnisse ließen keine prinzipiellen Abweichungen von den entsprechenden Ergebnissen bei den Ratten- und Mäusetumoren erkennen. Als einziger etwas abweichender Befund ist die Übertragbarkeit dieser Hundegeschwülste auf den Fuchs anzuführen, dessen Bastardierung mit dem Hund nicht einwandfrei nachgewiesen ist. Man hatte früher vielleicht nicht ganz unberechtigte Zweifel an der echten Geschwulstbildung dieser Neubildungen erhoben und hielt bei der Verallgemeinerung der an ihnen ermittelten Befunde Vorsicht für geboten. Die neueren Erfahrungen von Rous und Murphy bei den Spindelzellsarkomen des Huhns, die wohl sicher auf einem filtrierbaren Virus beruhen, lassen jedoch die Geschwulstnatur selbst so leicht transplantabler Geschwülste, wie es die Hundesarkome sind, in einem etwas anderen Lichte erscheinen, denn es ist unzweifelhaft, daß sich die Grenzen zwischen den „echten" und durch Parasiten bedingten Geschwülsten auf Grund der neueren Forschungen immer mehr verwischen.

Wenn wir bedenken, daß die in diesem Kapitel berücksichtigten Forschungen trotz ihrer Vielseitigkeit nur einen Teil der Arbeit bilden, die auf einem immerhin begrenzten Gebiet von Ehrlich teils geleistet, teils angeregt worden ist, so erscheint es berechtigt, ihm das Hauptverdienst daran zuzuschreiben, daß sich innerhalb 12 Jahren die experimentelle Krebsforschung aus kleinen Anfängen zu einem recht stattlichen Bau entwickelt hat. Sein Verdienst darf um so höher bewertet werden, als er den Schwerpunkt seiner Tätigkeit hier, wie ja auch sonst, weniger auf die Ermittlung von Einzeltatsachen, als vielmehr auf die Methodik und die Aufstellung allgemeiner, umfassender Gesichtspunkte gelegt hat, die zum Teil weit über die engen Grenzen der Geschwulstlehre hinausreichen. Mit weitschauendem Blick hat er den allein Erfolg versprechenden Großbetrieb geschaffen, mit ungewöhnlichem Erfolg war er stets bestrebt, die Methoden und Grundsätze der Bakteriologie der Krebsforschung nutzbar zu machen, und mit Ausdauer und Energie hat er schließlich die von ihm geschaffene Athrepsie, der das nächste Kapitel gewidmet ist, verteidigt. Mit diesen drei Taten wird sein Name auf dem Gebiete der Krebsforschung für immer verknüpft sein.

3.

# Athreptische Immunität.

## Die Bedeutung des Gedankens der Athrepsie für die Pathologie und Biologie des Wachstums, der Geschwülste und der Infektionskrankheiten.

Von

**G. Schöne,**

Greifswald.

Die Lehre von der Athrepsie verdankt ihren Ursprung den ausgedehnten experimentellen Studien und dem intensiven Nachdenken, welches Ehrlich den Problemen der Geschwulstpathologie gewidmet hat. Ihre Bedeutung erschöpft sich aber keineswegs in diesem relativ engen Bereich, sie berührt vielmehr ebenso innig unsere Grundanschauungen von dem Wesen des normalen Wachstums, der Infektionskrankheiten und vieler anderer Fragen der allgemeinen Biologie und Pathologie. Wir wollen uns im folgenden bemühen, die Entwicklung der Gedanken Ehrlichs zu verstehen.

### I. Pathologie der Geschwülste.

In der Geschwulstlehre hat sich mit dem Übergang in das neue Jahrhundert eine Wandlung vollzogen. Es ist noch nicht allzulange her, daß die Mehrzahl der Versuche, welche darauf ausgingen, die klassischen Arbeiten der pathologischen Anatomen und der Chirurgen mit neuen Methoden zu überflügeln, geradezu in Mißkredit gekommen waren. Der Krebserreger wurde unzählige Male entdeckt, ein Krebsserum löste das andere ab. Eine große Zahl von spekulativen Köpfen war von dem vorgefaßten Gedanken beherrscht, das Problem der Therapie des Krebses genau nach dem Schema einiger aus dem Studium bakterieller Erkrankungen gewonnener Methoden der Serologie

in Angriff zu nehmen. Der glückliche Zufall blieb aus. Es ist in dem voranstehenden Aufsatze Apolants dargestellt worden, wie außerordentlich fördernd die Entdeckung der übertragbaren Tiergeschwülste auf die experimentelle Arbeit eingewirkt hat. Naturgemäß ergab das Experiment manche überraschende Beobachtung, und jedenfalls gestattete es, alte und neue Hypothesen auf ihren Wert zu prüfen. Die besten Ideen aber erwuchsen aus der Arbeit selbst. Vor allem ist es Ehrlich gewesen, der die neue Wissenschaft mit seinen Gedanken belebt hat, welche in ihm jede neue Tatsache in überraschender Fülle auslöste.

Auch in den Arbeiten Ehrlichs und seiner Schüler spielen die Bestrebungen, unsere Kenntnisse von den Geschwülsten unter den Gesichtspunkten der allgemeinen Immunitätsforschung zu fördern, eine große Rolle. Sehr bald aber kam Ehrlich dazu, die Physiologie der Geschwulst auch von einem anderen Gesichtspunkt anzusehen, der bisher merkwürdigerweise von vielen Praktikern und Theoretikern vernachlässigt worden war, nämlich von dem Gesichtspunkt der Ernährung.

Gut beobachtenden Klinikern war eine solche Art, die Dinge zu betrachten, schon früher nicht ganz fremd. So soll in alter Zeit der Versuch gemacht worden sein, Geschwülste durch heroische Abführkuren günstig zu beeinflussen, und v. Mikulicz pflegte darauf hinzuweisen, daß ein Ösophaguskarzinom nach der Gastrostomie gelegentlich erst recht zu wachsen anfange. Aber in den Erwägungen der experimentellen Pathologen und Therapeuten spielte doch die Frage der Ernährung der Geschwülste keine wesentliche Rolle.

Wer selbst viel über diese Dinge nachgedacht hat und ihren früheren Stand aus eigener Erfahrung kennt, weiß, daß die scharfe Betonung der Ernährungsfrage im Geschwulstproblem die Loslösung von einer alten Schablone bedeutete und als guter auf dem Boden der Tatsachen erwachsener Gedanke erfrischend und anregend wirken mußte.

## Metastasenbildung und Doppelimpfungen.

Für jeden, dessen Interesse dahin geht, sich genaue Rechenschaft darüber abzulegen, wie die Wissenschaft fortschreitet, ist es wertvoll zu verfolgen, wie Ehrlich dazu kam, die Ernährungsfrage als ein Problem der Geschwulstpathologie aufzunehmen.

So verschieden Antikörperbildung und Ernährung dem Laien erscheinen mögen, so müssen wir es doch heute als ein wesentliches Verdienst der Ehrlichschen Seitenkettentheorie ansehen, daß sie beide Prozesse als einander wesensverwandt betrachtet. Wer sich in Ehrlichs Immunitätsstudien

vertieft hat, weiß, daß ihn von jeher die Probleme der Ernährung der Zelle und der Verteilung der Nährstoffe im Organismus beschäftigt haben. So lag es für ihn zweifellos näher als für manchen Anderen, im gegebenen Falle der Ernährungsfrage eine ganz besondere Aufmerksamkeit zu widmen.

In den ersten Jahren der experimentellen Arbeit mit den Geschwülsten betrachtete es Ehrlich[1][2] in Gemeinschaft mit Apolant[3] als für die weitere Forschung grundlegend, festzustellen, inwieweit die Tumoren der zur Verfügung stehenden Versuchstiere, also vor allem der Maus und der Ratte, den bösartigen Geschwülsten des Menschen wesensgleich oder wenigstens wesensverwandt seien. Es stellte sich dabei sehr bald die wichtige Tatsache heraus, daß die Spontantumoren der Maus relativ häufig und zwar in die Lungen metastasieren, während die große Mehrzahl der transplantablen Geschwülste im Verlauf der fortgesetzten Transplantationen die Fähigkeit zur Metastasierung mehr oder weniger schnell einbüßen. Dabei ergab sich aus den Untersuchungen von Haaland[4], daß das Versagen der Metastasierung bei den transplantierten Tumoren nicht etwa auf einem Ausbleiben der Zellverschleppung beruht, sondern, daß z. B. in dem Fall eines transplantablen Mäusesarkoms die in die Lunge embolisierten Geschwulstzellen entweder überhaupt nicht anwuchsen oder aber höchstens zur Bildung allerkleinster, nur mit dem Mikroskop nachweisbarer Metastasen Veranlassung gaben. Diese Tatsachen, welche an sich ein wichtiges Ergebnis der experimentellen Krebsforschung darstellen, wurden für Ehrlich der Ausgangspunkt für die Gedankengänge und Versuche, welche uns hier beschäftigen. Er ahmte im Experiment die Metastasenbildung in der Weise nach, daß er Tiere, die mit einem schnellwachsenden Tumor erfolgreich vorgeimpft worden waren, nach 8—10 Tagen mit demselben oder einem anderen Tumor nachimpfte. Bereits in einer seiner ersten Mitteilungen über experimentelle Karzinomstudien an Mäusen teilte er das Resultat dieser Versuche mit, daß nämlich die zweite Impfung bis auf wenige Ausnahmen versagte.

In Parallele mit dem Ergebnis dieser Versuche stellte Ehrlich (l. c. [1, 2])[5] eine oft bestätigte Erfahrung: bei der Impfung wird im Ehrlichschen Institut die Impfkanüle in der Leistengegend eingeführt und bis zur

[1]) Zeitschr. f. ärztl. Fortbild., H. 7, **1906** [*88*].
[2]) Arb. a. d. Inst. f. experim. Therapie, H. 1, S. 75; **1906** [*92*].
[3]) Ebenda, H. 1, S. 7; **1906** [*223*].
[4]) Berliner klin. Wochenschr., H. 34, **1906** [*363*].
[5]) Arb. a. d. Inst. f. experim. Therapie Frankfurt, H. 1, S. 63; **1906** [*91*].

Axilla vorgeschoben. Die Hauptmasse des Impfbreies wird in der Achselhöhle deponiert; an der Einstichstelle bleiben nur geringe Mengen haften. Bei den schnell wachsenden Sarkomen und Karzinomen entwickelt sich fast regelmäßig in der Achselhöhle der Haupttumor, während an der Einstichstelle die Tumorentwicklung entweder ausbleibt oder verspätet zur Bildung eines kleinen Knötchens führt, das auch späterhin in der großen Mehrzahl der Fälle nicht recht zum Auswachsen gelangt. Bei den sehr langsam wachsenden Chondromen dagegen kommen beide Tumoren meist ziemlich gleichmäßig zur Entwicklung.

Es ist interessant, zu verfolgen, wie von dem Zeitpunkt dieser Beobachtungen an der Gedanke der „Athrepsie" in Ehrlich feststeht und weiter und weiter entwickelt wird. Die beobachteten merkwürdigen Erscheinungen glaubte er am einfachsten damit erklären zu können, daß „im Falle der Mehrfachimpfung der gut vaskularisierte erste Tumor, welcher bei seinem Riesenwuchs gleichsam mit tausend Mäulern Nahrung schöpft, die für sein Wachstum notwendigen Substanzen so vollkommen dem Blut entreißt, daß für die unter viel ungünstigeren Ernährungsbedingungen befindlichen, sekundär verimpften, ebenso wie für die embolisch verschleppten Zellen keine für ihr weiteres Wachstum genügende Menge übrig bleibt". Diese „Immunität" des Versuchstieres gegenüber der Metastasenbildung resp. der zweiten Impfung bezeichnete Ehrlich (l. c. [1, 2]) damals im Gegensatz zu den gewöhnlichen Formen der aktiven und passiven Bakterienimmunität als eine athreptische (von *τρέφω*—ernähren). Auch der Gedanke der Athrepsie ist also beherrscht von dem in der Seitenkettentheorie zum prägnantesten Ausdruck gelangten distributiven Prinzip, d. h. der grundsätzlichen Überzeugung von der Bedeutung der Beziehungen zwischen Verteilung und Wirkung.

Schon in seinem ersten Bericht bemerkte Ehrlich ausdrücklich, daß im besten Einklange mit der Hypothese der Athrepsie die Tatsache stehe, daß bei ganz langsam wachsenden Tumoren, z. B. bei Chondromen, gelegentlich auch doppelseitige Tumoren beobachtet würden. Es spreche eben an sich das Ausbleiben von Metastasen nicht gegen den bösartigen Charakter der in Frage stehenden Geschwülste, sondern sei vielmehr der Ausdruck einer besonderen Form der Malignität, welche durch eine enorme Wachstumsenergie bedingt werde.

Die Versuche Ehrlichs sind mehrfach nachgeprüft worden. Ein Teil der Untersucher (Clowes und andere) hat sie ohne weiteres bestätigt. Andere aber, wie z. B. Hertwig und Poll, v. Gierke, Michaelis, Lewin konnten sich zunächst von einer Beeinträchtigung des Wachstums des nachgeimpften Tumors nicht überzeugen. Sticker sah am Hunde nach gleichzeitiger mehrfacher „Sarkom"-Impfung an verschiedenen Stellen des Körpers die entsprechende Zahl von Ge-

schwülsten zur Entwicklung gelangen, während in Versuchen mit zeitlich getrennten mehrfachen Impfungen die nachfolgenden Implantationen ohne Erfolg blieben.

Clowes hatte im Gegensatz zu Ehrlich angenommen, daß bei diesen Doppelimpfungen der zweite Tumor nicht durch eine athreptische Immunität im Sinne Ehrlichs, sondern durch eine aktive Geschwulstimmunität geschädigt werde.

Er meinte, daß Teile des ersten wachsenden Tumors zur Resorption kämen und so den Zustand einer aktiven Immunität herbeiführten, welche zwar der ersten bereits angewachsenen, gut vaskularisierten Geschwulst nichts anhaben könne, wohl aber die noch nicht angewachsenen und schlecht ernährten Zellen der zweiten Impfung schädigen müßte. Borrel sah den Versuch im Sinne Ehrlichs verlaufen, wenn zur Inokulation der Tumoren die auch von Ehrlich benutzte Breiimpfung angewendet wurde. Dagegen blieb in seinen Versuchen die Verlangsamung im Wachstum des zweiten Tumors aus, wenn statt der Breiimpfung die Stückchenmethode (Inokulation winziger Geschwulstpartikel) gewählt wurde. Aus den gegensätzlichen Resultaten dieser Versuche schloß Borrel ebenfalls, daß es sich im Falle der Wachstumsbehinderung des zweiten Tumors um eine aktive Immunität handle, verursacht durch Resorption eines Teiles des bei der ersten Impfung eingeführten Geschwulstbreies. Auch einzelne andere Autoren haben sich dieser Anschauung angeschlossen.

Angeregt durch diese Einwände und in der Überzeugung von der prinzipiellen Wichtigkeit der Frage, hat Ehrlich[6]) dem Gegenstand eine Anzahl weiterer Untersuchungen gewidmet. Er stellte zunächst fest, daß die absolute Athrepsie, d. h. die vollkommene Verhinderung der zweiten Impfung, nur bei hochvirulenten, stark wuchernden Tumoren und nur dann gelte, wenn der erste Tumor bereits eine beträchtliche Größe erreicht habe. Weiter vertiefte er den Begriff der Virulenz. Er hob hervor, wie der Virulenzsteigerung hinsichtlich der Übertragbarkeit eine natürliche Grenze mit einer Impfausbeute von 100 % gesetzt sei, wie aber für die Steigerung der Wuchsenergie diese Grenzen bei den einzelnen Geschwulststämmen individuell verschieden seien. So ergab die Züchtung des Chondroms besonders prägnant die Tatsache, daß eine hohe Angangsziffer nicht unter allen Umständen mit maximaler Schnelligkeit des Wachstums verknüpft ist, was bereits von Bashford betont worden war. Neben diesen offenkundigen Qualitäten der Angangsziffer und der Wachstumsgeschwindigkeit schloß Ehrlich aber noch auf andere mehr latente Eigenschaften der Virulenz und zwar auf Grund der in unserem Zusammenhange sehr wichtigen Erfahrung, daß zwei Karzinomstämme von ungefähr gleicher

[6]) Verhandl. d. Deutschen Pathol. Ges., **1908** [*157*].

Angangsziffer und Wuchsenergie sich in der Verhinderung der Nachimplantation verschieden verhielten: der eine verhinderte das Angehen vollkommen, der andere nur in beschränktem Maße. Ehrlich nannte diese Funktion eine exhaustive oder ereptive, ohne zunächst zu entscheiden, ob es sich hier um eine maximal gesteigerte Avidität der Tumorzellen oder um eine besondere Verwandtschaft derselben mit für das Tumorwachstum besonders nötigen Bestandteilen des Organismus handele. Abgesehen von derartigen feinen Differenzen erklärte Ehrlich, daß die meisten seiner Gegner entweder Tumoren von ungenügender Virulenz gewählt hätten oder die zweite Impfung der ersten zu schnell hätten folgen lassen. Die Wahl des richtigen Zeitintervalls erschien besonders deshalb von Bedeutung, weil Lewin bei Ratten beobachtete, daß sehr schnell aufeinander folgende Impfungen einen wachstumsbegünstigenden Einfluß ausüben können.

Bereits v. Gierke hatte in wichtigen Versuchen mit transplantablen hämorrhagischen Tumoren der Maus gesehen, daß die Vorimpfung das Wachstum des zweiten Tumors deutlich steigerte. Flexner und Jobling zeigten an der Ratte, daß man durch die Injektion einer eine halbe Stunde auf 56° erhitzten Geschwulstemulsion zwar zunächst, wie zu erwarten stand, niemals einen Tumor bekam, daß aber durch eine nach einer gewissen Zeit, und zwar nach etwa 2—4 Wochen, vorgenommene Nachimpfung der vorbehandelten Tiere mit normalem Impfmaterial eine Steigerung der Angangsziffer und der Wachstumsenergie erzielt wurde. Ähnliche das Wachstum begünstigende Wirkungen erhielt im Ehrlichschen Institut auch Moreschi (l. c. [17]).

Ehrlich (l. c. [6]) sah in diesen Beobachtungen über Wachstumsbegünstigung keinen triftigen Einwand gegen seine athreptische Lehre. Es erschien ihm im Gegenteil die Annahme gut in den Rahmen derselben zu passen, daß von den Tumoren gelegentlich Substanzen ausgehen, die das Wachstum begünstigen können, und er erinnerte in diesem Zusammenhang gern daran, daß Starling der Nachweis spezifischer Wuchsstoffe einwandfrei gelungen sei, indem er durch die Einspritzung von Embryonenbrei oder Embryonenextrakten bei nicht trächtigen Kaninchen eine Vergrößerung der Milchdrüsen, ja sogar Milchabsonderung herbeiführen konnte. Im Gegensatz zu derartigen während der Gravidität zu beobachtenden Wachstumsbegünstigungen legte Ehrlich großen Wert auf die von Haaland [7]) und von vielen anderen konstatierte Tatsache, daß die Geschwulstimpfung bei graviden Tieren häufig ohne Erfolg bleibt, oder daß das Wachstum eines einem graviden Tiere implantierten Tumors stark verlangsamt wird. Er nahm an, daß es sich hier um eine typische

[7]) Berliner klin. Wochenschr., H. 23, **1907** [*364*].

athreptische Erscheinung, nämlich um eine Konkurrenz des Tumors mit den heranwachsenden Embryonen handele. Wenn andererseits hier und da auch im Experiment wie oft beim Menschen eine Wachstumssteigerung des Tumors während der Gravidität beobachtet wurde, so sah Apolant[8]) es als nicht unvereinbar mit dem Prinzip der Athrepsie an, daß unter Umständen auch während der Schwangerschaft im Übermaß produziertes Nährmaterial der Geschwulst zugute kommen könne. Was schließlich die Beobachtung von Askanazy angeht, daß trächtige Ratten einen besonders guten Boden für das Auswachsen experimenteller Teratoide abgeben, so sah Ehrlich hierin eine Hormonwirkung im Sinne Starlings, welche aber mit der Frage der Athrepsie zunächst nicht direkt etwas zu tun habe.

Mit allen diesen zum Teil mehr gelegentlichen Versuchen das Problem der Athrepsie zu klären, begnügte Ehrlich sich nicht, sondern er faßte es noch einmal an demselben Punkte an, an welchem er zuerst angesetzt hatte. Er wandte sich wieder der Frage der Doppelimpfungen zu und untersuchte zunächst, ob und inwieweit den Angaben Borrels über den verschiedenen Ausfall der Breiimpfungen und Stückchenimpfungen Berechtigung zukomme. Dabei ergab sich allerdings, daß bei der Anwendung der Stückchenimpfung der nachgeimpfte Tumor eine geringere Behinderung seines Wachstums erlitt als bei der Anwendung der Breiimpfung. Erstens aber blieb diese Behinderung doch erkennbar, und zweitens stellte sich heraus, daß im Ehrlichschen Institut die Wachstumsenergie der nach der Stückchenmethode fortgepflanzten Geschwülste wesentlich hinter derjenigen der nach der Breimethode verimpften Tumoren zurückstand. Damit fehlte aber in diesen Versuchen eine wesentliche Vorbedingung für das Zustandekommen athreptischer Wirkungen. Im übrigen konnte Ehrlich sich überhaupt nicht davon überzeugen, daß die Impfung mit großen Dosen virulenten Geschwulstbreies an und für sich zu einer aktiven Immunität führe, wenigstens nicht in dem Sinne, daß etwa kleinere Dosen ein stärkeres Geschwulstwachstum veranlaßten als große. Das Umgekehrte war in seinen Versuchen der Fall.

Weiterhin modifizierte Ehrlich (l. c. [6]) seine Versuchsanordnung zeitweise dahin, daß er nicht nur den zeitlich getrennten Doppelimpfungen, sondern auch den einzeitigen Mischimpfungen seine Aufmerksamkeit zuwandte. Er ging dabei von früheren Versuchen Apolants[9]) aus, in denen die Verimpfung von Mischungen aus Kar-

[8]) Zeitschr. f. allgem. Physiol., **IX**, 63, **1909** [*230*].
[9]) Zeitschr. f. Krebsforsch., **VI**, 251, **1908** [*226*].

zinom und Sarkom Mischtumoren vom Typus des Carcinoma sarcomatodes ergeben hatte. Bei späteren Wiederholungen zeigte sich aber, daß bei gleichem Vorgehen reines Sarkom entstand. Ehrlich erblickte hierin den Ausdruck einer Virulenzsteigerung des Sarkomanteils, und er sah einen Beweis hierfür in der Tatsache, daß nach Abschwächen der Virulenz durch Einwirkung stärkerer Kältegrade wieder Mischgeschwülste, nach noch intensiverer Abschwächung der Virulenz des Sarkoms reine Karzinome entstanden. Das Wesen des Vorganges erblickte Ehrlich in dem Überwuchern der stärkeren Komponente, d. h. derjenigen, welche die Nährstoffe mit größerer Energie an sich riß, und er verglich diese Befunde mit der natürlichen Reinzüchtung mancher Mikroorganismen, z. B. der Bierhefen durch einseitigen Verbrauch der Nährstoffe. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen der gleichzeitigen Mischimpfung standen diejenigen mit zeitlich getrennten Doppelimpfungen. Bei der Vorimpfung mit hochvirulentem Sarkom und Nachimpfung mit schwach virulentem Karzinom zeigte sich eine deutliche Wachstumsbehinderung des zweiten Tumors; dagegen führte die Sarkomimpfung nach Vorimpfung mit schwach virulentem Karzinom zur Entwicklung von Geschwülsten, die sich von den Kontrollen nicht wesentlich unterschieden. Da zudem im zweiten Falle der erste Tumor trotz seines größeren Alters von dem später geimpften noch deutlich in seiner Entwicklung zurückgehalten wurde, erblickte Ehrlich hierin einen schlagenden und unanfechtbaren Beweis für die Bedeutung athreptischer Einflüsse.

Einen anderen Versuch, die Frage der Athrepsie bei Doppelimpfungen aufzuklären, haben Sticker am Hund, Schöne[10]) (im Ehrlichschen Institut) an der Maus gemacht. Der diesen Untersuchungen zugrunde liegende Gedanke war der, daß falls Ehrlichs Erklärung zutreffend sei, jedes Hindernis für das Angehen einer zweiten Impfung fortfallen müsse, sobald man den ersten Tumor exstirpiere. In den Versuchen von Schöne wurden die operierten Tiere 8 Tage bis 3 Wochen nach der Operation, also nach Abschluß der Wundheilung zum zweitenmal geimpft; das Resultat war, daß die zweite Impfung ebenso gut anging wie bei normalen Mäusen.

Schöne machte sich damals selbst den Einwand, daß während der relativ langen, zwischen der Operation und der zweiten Impfung verstrichenen, Frist eine schwache Immunität abgeklungen sein könne, und dachte auch daran, daß der eingreifende Akt der Operation bei der kleinen Maus die Immunität möglicherweise zu brechen imstande sei. Auffallend war immerhin

[10]) Verhandl. d. Deutschen Ges. f. Chirurgie, **1907** [574].

die Tatsache, daß Sticker in den entsprechenden Versuchen mit seinen sog. Lymphosarkomen des Hundes auch bei einer Nachimpfung einen Tag nach der Exstirpation der ersten Geschwulst ein gutes Wachstum des zweiten Tumors erzielt hatte.

Die Operationsversuche sind von verschiedenen Seiten aufgenommen und modifiziert worden. Besonders intensiv haben sich Uhlenhuth und seine Mitarbeiter Dold, Bindseil, Händel und Steffenhagen, Schönburg und Meidner mit ihnen beschäftigt. Es gebührt Uhlenhuth und seinen Mitarbeitern das Verdienst, auf zwei wichtige Punkte hingewiesen zu haben. Sie fanden nämlich, daß unter den Resultaten einer zweiten Impfung nach vorangegangener Exstirpation eines ersten Tumors insofern wesentliche Unterschiede bestehen, als die zweite Impfung nur dann anging, wenn sich an der Operationsstelle ein Rezidiv entwickelte, daß sich die zu diesen Versuchen benutzten Ratten aber der zweiten Sarkomimpfung gegenüber immun erwiesen, wenn das Rezidiv an der Operationsstelle ausblieb. Weiter legten sie Gewicht darauf, daß zwischen erster Impfung und Operation eine gewisse Zeit (ca. 3 Wochen) verstrichen sein müsse. Gay fand an 32 Tieren, daß sich die große Mehrzahl derselben nach der Operation als refraktär erwies; wesentlich anders waren die Resultate von Mopurgo und Donati, die bei 19 rezidivfrei operierten Tieren jedesmal, bei 16 Tieren mit Rezidiven 15 mal ein positives Ergebnis der Nachimpfung erhielten, aber das Zeitintervall im Sinne Uhlenhuths nicht streng innegehalten hatten. Apolant[11])[12]) konnte die Angaben Uhlenhuths in einigen Serien bestätigen, während seine Resultate in anderen Serien ihn eine Gesetzmäßigkeit nicht erkennen ließen. Schließlich fand Russell, der dieselben Versuche mit verschiedenen Tumorstämmen durchführte, daß die einzelnen Stämme sich, ganz abgesehen von der Rezidivbildung, nicht gleichartig verhielten. Bei manchen ging die zweite Impfung nach der Exstirpation des ersten Tumors gut an, bei anderen nicht.

Von einer Anzahl der im vorstehenden genannten Autoren, besonders von Uhlenhuth und von Russell, ist das bisherige Ergebnis der Operationsversuche als unvereinbar mit der athreptischen Theorie Ehrlichs angesehen worden. Sie erklären vielmehr das Resultat der Operationsversuche mit einer durch den wachsenden Tumor ausgelösten aktiven Immunität.

Uhlenhuth und seine Mitarbeiter setzten im einzelnen auseinander, wie nach der radikalen Exstirpation eines etwa 3 Wochen alten Tumors die im

[11]) Zeitschr. f. Immunitätsforsch., **X**, 103, **1911** [*232*].
[12]) Zeitschr. f. Krebsforsch., **XI**, 97, **1911/12** [*234*].

Körper gebildeten Antistoffe nunmehr gegenüber neu implantiertem Geschwulstgewebe voll zur Wirkung kommen und dessen Entwicklung verhindern können. Bleiben dagegen bei der Operation auf ihrem Mutterboden unter günstigen Ernährungsbedingungen belassene entwicklungsfähige Tumorzellen zurück, welche weiter zu wuchern vermögen, d. h. kommt es zu einem Rezidiv, so werden dadurch die Abwehrstoffe des Organismus so paralysiert, daß auch an anderen Stellen nachgeimpfte Geschwulstzellen zur Entwicklung kommen können. Um zu erklären, warum sich die bei unvollkommener Operation zurückgelassenen Geschwulstreste der Immunitätswirkung gegenüber refraktär erweisen, nahmen sie weiter an, daß der ursprüngliche Tumor eine Festigkeit gegen die Abwehrstoffe erworben habe. Daß es überhaupt möglich ist, in einem Tiere, welches einen wachsenden Tumor trägt, künstlich eine aktive Immunität zu erzeugen, glaubt Russell erwiesen zu haben. Schöne (l. c. [10]) war dies in früheren im Ehrlichschen Institut durchgeführten Versuchen, deren Beweiskraft er allerdings sehr zurückhaltend beurteilte, nicht gelungen. Auffällig ist, daß in mehreren der Versuchsreihen Russells die bei tumortragenden Tieren erreichte aktive Immunität quantitativ hinter der mit denselben Mitteln bei normalen Tieren erzielten zurückstand, während in anderen Versuchsserien das Verhältnis ein umgekehrtes war. Es wäre möglich, daß die einzelnen Geschwulststämme sich auch in dieser Beziehung verschieden verhalten, und daß es Tumoren gibt, deren Gegenwart die Entwicklung einer aktiven Immunität eher erschwert.

In jüngster Zeit hat das Ehrlichsche Institut zu diesen außerordentlich heiklen und schwierigen Fragen noch einmal Stellung genommen und zwar in einer Arbeit von Apolant (Handbuch der pathog. Mikroorganismen, II. Aufl., III. Bd., 1913). Er sieht in der Tatsache, daß nach der Exstirpation des ersten Tumors etwa zurückbleibende Zellen nicht nur nicht geschädigt, sondern sogar in ihrem Wachstum begünstigt werden (Steigerung der Wachstumsenergie nach unvollständigen Operationen), den deutlichen Ausdruck der Athrepsie.

Die Annahme Uhlenhuths und seiner Mitarbeiter von der Festigkeit des ursprünglichen Tumors gegenüber den Abwehrstoffen, zu der sich bereits früher auch Borrel bekannt hatte, bekämpft Apolant mit dem von Ehrlich schon gegen Borrel angeführten Einwand, daß alle seit Jahren gezüchteten Tumoren in diesem Sinne fest sein müßten; sollte es sich hier aber um individuelle Festigkeit handeln, so sei es unbegreiflich, daß der exstirpierte Tumor auch auf dasselbe Tier geimpft (Uhlenhuth und seine Mitarbeiter), nicht anwachse. Apolant bekennt sich daher zu der Ansicht, daß die Resultate Uhlenhuths nicht einheitlich zu erklären seien. Ein Teil der Tiere sei doch vielleicht trotz anfänglichen Tumorwachstums immun gewesen, was sich erst durch eine spätere spontane Resorption dokumentiert hätte. Auch sei möglicherweise die Operationsschädigung in Betracht zu ziehen und endlich zu berücksichtigen, daß geringe, bei der Operation liegen gebliebene Zellmassen infolge der Hautspannung zugrunde gingen, resorbiert würden und so das Tier aktiv immunisierten. Wie weit diese allerdings in Ermangelung

besserer Erklärungen aufgestellten Deutungsmöglichkeiten zuträfen, wieweit Stammeseigentümlichkeiten eine Rolle spielten, und welche Momente sonst noch zu berücksichtigen seien, darüber lasse sich zur Zeit noch kein abschließendes Urteil geben.

Jedenfalls sei in den bisherigen Ergebnissen der Exstirpationsversuche keine strikte Widerlegung der athreptischen Theorie zu erkennen. Im Gegenteil seien als direkter Beweis für die Richtigkeit der Ehrlichschen Anschauung Beobachtungen von Pierre-Marie und Clunet, auch im Sinne dieser Autoren selbst, anzusehen. Sie fanden unter 145 nicht behandelten Geschwulstträgern des Stammes M. keine makroskopische Metastase, unter 11 operierten Tieren mit Rezidiven dagegen 5. Die Untersuchung von 230 mit dem Stamm F. infizierten, nicht operierten Tieren ergab 2 mal, die Autopsie 24 operierter Tiere dagegen 9 mal Metastasen.

## Natürliche Resistenz.

Das mannigfaltige Tatsachenmaterial, welches für eine Abhängigkeit der Transplantierbarkeit der Tumoren nicht nur von der Spezies, sondern auch von Differenzen der Rasse und Individualität der Versuchstiere sprach, und zu dessen Erkenntnis zahlreiche Autoren (Jensen, Michaelis, Bashford, Landsteiner, v. Gierke, Uhlenhuth und Weidanz, Schöne, Lurje, Clunet, Haaland, Cuénot und Mercier, Tyzzer und andere) beitrugen, führte Ehrlich im Zusammenhang mit eigenen Erfahrungen und den Ergebnissen seiner Trypanosomenstudien zu der Auffassung, daß neben den Rezeptoren, welche auf die im Wirtstier gebotenen Nährsubstanzen eingestellt sind, noch eine Anzahl potentieller Anlagen vorhanden sein müssen. So ergeben sich auf Grund der Lehre Ehrlichs, wie das besonders in einer Darstellung von Apolant scharf präzisiert wurde, bei der Übertragung innerhalb derselben Tierart drei Möglichkeiten. Entweder findet der Tumor dieselben Nährstoffe wie auf dem Ausgangstier und wächst an, oder er findet überhaupt keine auf seine Rezeptoren passenden Nährstoffe und stirbt ab; endlich können aber auch die im neuen Wirtsorganismus vorhandenen Nährsubstanzen zwar nicht auf seine bisher in Aktion stehenden Rezeptoren, aber wohl auf seine latenten Rezeptoranlagen passen. In diesem Falle erfolgt eine Adaptation des Rezeptorenapparates, deren Resultat, wie besonders die Trypanosomenversuche Ehrlichs gezeigt haben, auch für fernere Generationen erblich ist. Dabei können die alten Rezeptoren schwinden, so daß der Tumor die Fähigkeit, auf der ursprünglichen Tierrasse wieder zu wachsen, mehr oder weniger einbüßt.

Ganz besonders scharf und präzis hat Ehrlich weiterhin die Lehre von der Athrepsie auf Grund der allgemeinen und seiner persön-

lichen Erfahrungen mit der Geschwulstübertragung auf artfremde Tiere ausgebildet. Auch in den Untersuchungen des Ehrlichschen Instituts war die Beobachtung bestätigt worden, daß Geschwülste sich auf die Dauer nur innerhalb derselben Tierart fortzüchten lassen. Bei der Überimpfung von Mäusegeschwülsten auf die Ratte ergab sich aber eine bemerkenswerte Erscheinung. Ehrlich (l. c. [1, 2]) [13]) beobachtete, wie sich auf der Ratte in den ersten Tagen ein schnell wuchernder Tumor bildete, der bis ungefähr zum sechsten Tage zunahm. Dann aber stand das Wachstum still, und es folgte regelmäßig eine vollständige Resorption der gewucherten Geschwulstmasse. Es gelang nicht, den auf der Ratte gewachsenen Tumor direkt auf andere Ratten zu übertragen, dagegen wucherte der Rattentumor, auf die Maus zurückgebracht, in der alten Weise fort. So hat Ehrlich 14 Generationen hindurch die Zickzackimpfung zwischen Maus und Ratte fortsetzen können.

Ribbert hatte auf Grund der Beobachtung, daß Hautstückchen vom Menschen und Meerschweinchen, in subkutane Taschen des Kaninchenohres übertragen, 3 Tage lang Wucherungserscheinungen darboten, dann aber zugrunde gingen, zur Erklärung des Versagens artfremder Transplantationen die Hypothese aufgestellt, daß die Gewebe während der Zeit ihres Wachstums dem artfremden Organismus zwar Wasser und Sauerstoff zu entnehmen befähigt seien, aber abstürben, wenn sie aus Mangel an eigenem Material auf die eigentlichen Nährsubstanzen des Wirtes angewiesen würden, und zwar deshalb, weil sie nicht imstande seien, diese Nährstoffe auszunützen. Ehrlich (l. c. [1, 2]) [14]) wendete dagegen ein, daß die Entwicklung einer Mäusegeschwulst auf der Ratte bis zur Größe einer Dattel undenkbar sei, wenn die Zellen nicht außer Wasser und Sauerstoff auch das ihnen vom Wirtstiere dargebotene Nährmaterial in ausgiebigstem Maße ausnützen sollten. Er erklärte, daß die Geschwulstzelle daran zugrunde gehe, daß im Rattenorganismus ein ganz bestimmter, für das dauernde Wachstum der Mäusezellen notwendiger Stoff X entweder fehle oder nicht disponibel sei. Der Tumor wachse in der Ratte nur so lange, bis das bei der Impfung mit übertragene Quantum des Stoffes X verbraucht sei. Diese auf dem Fehlen eines bestimmten Nährstoffes beruhende Immunität der Ratte bezeichnete er demgemäß wieder als eine athreptische. Er wies in diesem Zusammenhange gern auf eine Analogie im Verhalten des Influenza-

[13]) Zeitschr. f. Krebsforsch., **V**, 59, **1907** [*95*].

[14]) Beitr. z. experim. Pathol. u. Therapie, S. 50 u. 117, Leipzig **1909** [*100*, *106*].

bazillus bei der künstlichen Züchtung hin, welche in der ersten Kultur unmittelbar aus dem Sputum ohne weiteres zu gelingen pflegt, späterhin aber nur auf hämoglobinhaltigem Nährboden möglich ist.

v. Dungern und Werner haben gegen diese Auffassung Ehrlichs den Einwand erhoben, daß sich die geschilderten Erscheinungen auch durch die gewöhnliche Antikörperimmunität verständlich machen ließen. Sie betonten, daß das Schwinden des Tumors nicht gleichzeitig mit der ersten Bildung von Amboceptoren beginnen müsse, da ja außer derselben die Einwirkung einer genügenden Menge von Komplement erforderlich sei. Bei der Transplantation auf die zweite Ratte könne der Tumor bereits mit Amboceptoren beladen sein und hier unter den besonderen, durch die Impfung gegebenen mechanischen Verhältnissen eine weit bessere Gelegenheit finden, mit dem Rattenkomplement in Verbindung zu treten. Das Mäusekomplement brauche aber auf den Rattenamboceptor nicht zu passen, so daß die Immunitätswirkung bei der Rückimpfung auf die Maus ausbleiben könne. Ehrlich (l. c. [14]) hat sich mit Entschiedenheit gegen diese Auffassung v. Dungerns und Werners ausgesprochen. Er erklärte die Annahme, daß zwischen der Bindung der supponierten Amboceptoren und des Komplements erhebliche Zeitdifferenzen bestünden, für willkürlich; auch sei es ihm unbegreiflich, warum der gut vaskularisierte Tumor der ersten Ratte in eine weniger innige Berührung mit dem Komplement treten solle als der einfach in das subkutane Gewebe hineingeschobene Impfbrei auf der zweiten Ratte.

Bashford, Levin und Sittenfield bemerkten im Gegensatz zu Ehrlich bei solchen Zickzackimpfungen ein Nachlassen der Virulenz. Apolant[15]) gibt zu, daß es sich hier in der Tat um eine durch eine aktive Immunisierung der Ratte bedingte Zellschädigung handeln könne. Daß eine solche aktive Immunität bei der Geschwulstimpfung von der Ratte auf die Maus wirklich entstehe, habe ja Ehrlich selbst aus dem vollständigen Versagen einer zweiten Impfung auf dieselbe Ratte geschlossen. Ob es zu diesen Schädigungen komme, hänge von den Eigenheiten des verwendeten Tumors, sowie von der zeitlichen Anordnung des Versuchs ab. Im Gegensatz aber zu den genannten Autoren sei ein Einwand gegen die athreptische Theorie aus solchen Versuchsergebnissen nicht abzuleiten.

James Murphy ist es neuerdings gelungen, ein Rattensarkom und Mäusetumoren auf Hühnchenembryonen zu übertragen und 46 Tage lang von Embryo auf Embryo weiterzuzüchten, während der Tumor auf dem ausgewachsenen Huhn nicht wuchs. In Erinnerung an die Mitteilung von Famulener, daß gewisse Immunitätsreaktionen in sehr jungen Tieren nicht zustande kommen, nimmt er in ausdrücklichem Widerspruch gegen die athreptische Lehre Ehrlichs zur Erklärung seiner Versuchsergebnisse ein solches Ausbleiben der Immunitätsreaktion an. Apolant hat es demgegenüber für eine offene Frage erklärt, ob trotz der bereits den Keimzellen zukommenden Artspezifität die für das Tumorwachstum in Betracht kommenden Nährstoffe im embryonalen Leben schon nach

[15]) Journ. of experim. med., **XIV**, 316, **1911** [*233*].

der Spezies genügend differenziert seien. Es gibt in der Tat sog. biochemische Unterschiede zwischen erwachsenen und embryonalen Formen derselben Art. So teilte Braus mit, daß sich aus erwachsenen Unken das Antigen für ein Präzipitin gewinnen lasse, welches durch Verwendung von Material aus der Unkenlarve nicht erhalten wird. Sachs fand, daß die Blutkörperchen eben ausgekrochener Hühnchen im Gegensatz zu denen der erwachsenen Tiere von Arachnolysin nicht angegriffen wurden (s. S. 212).

### Quantitative Ernährungsversuche an tumortragenden Tieren.

Wer der Darstellung bis hierher gefolgt ist, wird einen lebhaften Eindruck davon empfangen haben, in wie hohem Maße das Problem von der Bedeutung athreptischer Funktionen für das Tumorwachstum das Interesse Ehrlichs beschäftigt hat. Es erscheint als eine Konsequenz alles Vorhergehenden, wenn Ehrlich das Bedürfnis empfand, der Frage auch durch genaue quantitative Untersuchungen zu Leibe zu gehen. So ist im Ehrlichschen Institut die Arbeit Moreschis[16])[17]) über die Beziehungen zwischen Ernährung und Tumorwachstum entstanden. Die Versuche, um die es sich hier handelt, geben ein Bild von den Beziehungen, welche zwischen der Entwicklung des Tumors und der Menge der dem Tiere zugeführten Nährsubstanzen bestehen. Sie werfen ferner ein Licht auf die Veränderungen, welche die Unterernährung im Organismus hinsichtlich der Avidität der Zellen zu den Nährstoffen verursacht, und wie sich diese Veränderungen in der Entwicklung der Tumoren fühlbar machen. Es wurde ein enorm wuchskräftiges Mäusesarkom benutzt. Moreschi ging in der Weise vor, daß er die Ernährung eines Teiles der Versuchstiere quantitativ einschränkte. Je nach dem Zeitpunkt, an welchem die Nahrungsverminderung einsetzte, und je nach dem Grade, den sie erreichte, ergaben sich sehr bemerkenswerte Unterschiede in dem Ausfall der Versuche. Man kann die Experimente Moreschis in drei große Gruppen teilen.

In der ersten Gruppe setzte eine sehr erhebliche Nahrungsbeschränkung bereits längere Zeit (bis zu mehreren Wochen) vor der Impfung ein. Das Resultat war, daß die Tumoren entweder überhaupt nicht angingen oder sehr wesentlich langsamer wuchsen und kleiner blieben als bei den Kontrollen, die ihre Nahrung beliebig wählen

[16]) Zeitschr. f. Immunitätsforsch., **II**, 651, **1909** [*442*].
[17]) Ebenda, **II**, 675, **1909** [*443*].

konnten. Bemerkenswert war vor allem die Tatsache, daß diese Tiere länger lebten als die Kontrollen.

Zur Erklärung greift Moreschi auf die für alle diese Versuche wichtigen gesetzmäßigen Beziehungen zwischen Ernährung und Wachstum zurück, wie sie von Rubner genauer präzisiert worden sind. Es handelt sich um die Tatsache, daß eine Zelle den Stickstoff mit um so größerer Begierde ersetzt und ansetzt, je mehr Stickstoff sie eingebüßt hat. Es hat demgemäß der Körper der Maus während der Hungerzeit vor der Impfung eine Steigerung seiner Avidität für das Eiweiß erfahren, d. h. die Verteilung der Nährstoffe zwischen Tumor und Körper hat eine Veränderung zugunsten des zweiten erlitten. Unter diesen Verhältnissen deckt die zugeführte Nahrungsmenge, die schon den Bedürfnissen des Organismus nicht mehr entspricht, erst recht nicht den Bedarf des Tumors, so daß dieser von Anfang an im Wachstum zurückbleibt. Erst mit der Zeit tritt unter dem fortdauernden Hungerreiz eine Ausgleichung des Aviditätsdifferentials zwischen Körper und Geschwulst ein, und erst wenn schließlich doch wieder die Avidität des Tumors überwiegt, muß das Tier bald zugrunde gehen. Es bestehen also längere Zeit hindurch sehr ungünstige Verhältnisse für den Tumor. Das Tier lebt noch so dahin, während die normal ernährten Kontrollen bereits an ihren rapid gewachsenen Geschwülsten sterben.

In der zweiten Gruppe begann die Beschränkung der Ernährung erst einige Tage nach der Impfung, also zu einem Zeitpunkt, wo der Tumor bereits angewachsen war. War die Beschränkung sehr erheblich, so starben die Tiere sehr bald, und zwar wesentlich früher als die normal ernährten Kontrollen und als nicht geimpfte Mäuse, welche derselben Ernährungsbeschränkung unterlagen.

Diese zweite Gruppe der Versuche wird dahin erklärt, daß die tumortragenden Hungertiere deshalb früher sterben als die nicht geimpften Kontrollen, weil der schon bei Beginn der Nahrungsveränderung entwickelte Tumor die sehr knappen Nährstoffe zu einem guten Teile an sich reißt.

Wurde schließlich in der dritten Gruppe die Ernährung ebenfalls erst einige Tage nach der Impfung beschränkt, aber in weit geringerem Maße als in den Versuchen der zweiten Gruppe, derart, daß die Tiere an sich längere Zeit am Leben bleiben konnten, aber nur gerade das notwendige Maß erhielten, so kam es zu einer langsam fortschreitenden Hemmung des Tumorwachstums; auch diese Tiere blieben länger am Leben als die normal ernährten geimpften Kontrollen.

Zur Erklärung der Versuchsresultate aus dieser wichtigsten Gruppe, könnte man daran denken, daß mit der Ernährungsbeschränkung die

Verteilung der Nährstoffe zwischen Tumor und Organismus eine Verschiebung zugunsten des zweiten erleide, weil der Hungerreiz die Avidität der Körperzellen steigert. Ehrlich und Moreschi erheben dagegen das Bedenken, daß der Hungerreiz, welcher die Avidität der Körperzellen steigere, in demselben Sinne natürlich auch auf diejenige der Tumorzellen einwirke, derart, daß eine Änderung des Aviditätsdifferentials keineswegs einzutreten brauche. Es könne deshalb für den Tod der Tiere nicht ausschließlich der Mangel an gewöhnlichen Nährstoffen verantwortlich gemacht werden.

Moreschi und mit ihm Ehrlich legen vielmehr das Hauptgewicht auf eine Verarmung an spezifischen, autogenen Stoffen, welche in keiner quantitativen Beziehung zu den allgemeinen Nährstoffen stehen, aber für das Leben des Organismus von grundlegender Bedeutung sind. Die Tiere sterben, wenn der wachsende Tumor so viel von diesen Stoffen an sich reißt, daß für den Organismus keine genügenden Mengen übrig bleiben. Dieser Augenblick tritt bei den unterernährten Tieren später ein, als bei den normal ernährten, da infolge der Ernährungsbeschränkung das Tumorwachstum überhaupt ein langsameres ist.

Aus diesen Gedankengängen folgt nach Apolant (l. c. [8]) auch eine Erklärung für die bereits früher von Murray festgestellte Tatsache, daß die zugunsten des Tumors stattfindende Gewichtsabnahme des Organismus bei alten Tieren viel später auftritt als bei jungen. Die jungen Tiere brauchen sehr reichliche Mengen der betreffenden autogenen Substanzen zu ihrem Wachstum, und da ihnen diese durch die avideren Tumorzellen weggenommen werden, so tritt bald ein Wachstumsstillstand ein. Bei alten Tieren dagegen, welche sehr viel weniger Ansprüche an diese Stoffe stellen, macht sich der Ausfall in entsprechend geringem Maße und später geltend.

### Genese der Geschwülste.

Schon sehr früh (l. c. [1, 2]), vgl. auch [18])) hat Ehrlich die Bedeutung athreptischer Funktionen für die Geschwulstgenese hervorgehoben und damit seine Lehre in den Mittelpunkt des Interesses aller derer gestellt, welche der Frage der Geschwulstentstehung ernsthaft nachgehen. Er (l. c. [14]) unterscheidet bei der Krebsentwicklung zwei Stadien, nämlich erstens die primäre Entstehung der karzinomatösen Zellumänderung und zweitens das Auswachsen „dieses originären Kleingebietes modifizierter Zellen“ zu einem wirklichen Tumor. Er ist überzeugt, daß für das letztere Moment der Resistenz des Organismus die wesentliche Rolle zukommt. Unabhängig von einander waren sowohl

[18]) Wiener klin. Wochenschr., H. 49, **1907** [*96*].

Albrecht wie Ehrlich (l. c. [1, 2, 14]) zu der Anschauung gelangt, daß das Wesen der Geschwulstbildung in einem Aviditätsdifferential zwischen den zur Geschwulst auswachsenden Zellen und den übrigen Körperzellen besteht. Es ist zweifellos, daß die Substanzen, derer die Geschwulstzelle zu ihrem Wachstum bedarf, zum größten Teil auch von den Zellen der Körpergewebe assimiliert werden können. D. h. im Sinne der Ehrlichschen Seitenkettentheorie ausgedrückt, daß die dem Zellwachstum dienenden, also rein assimilatorischen Rezeptoren der Geschwulstzellen wenigstens zu einem Teil mit denen anderer Körperzellen identisch sind. Die Verteilung der Nährsubstanzen im Körper wird reguliert 1. durch die Zahl der in den einzelnen Zellen sitzenden Rezeptoren und 2. durch die Avidität derselben. Entsteht nun eine Tumorzelle, so wird ein übermäßiges Wachstum nur erreicht werden können, wenn die Rezeptoren dieser Zelle eine relativ höhere Avidität gegenüber den betreffenden Substanzen besitzen. Zur Erklärung der Entstehung dieses Aviditätsdifferentials zwischen Tumorzelle und Körperzelle nahm Albrecht eine über die Norm gesteigerte Avidität der Geschwulstzelle an, während Ehrlich auf Grund seiner Untersuchungen an nicht verimpfbaren, relativ gutartigen Spontantumoren dieses Differential durch eine Abnahme der Körperavidität erklärte, an der sich bestimmte Zellgruppen aus irgendwelchen Ursachen nicht beteiligen; nur für stärker virulente Tumoren ließ er eine absolute Steigerung der Avidität gelten. Zu der Anschauung von der relativen Verminderung der Avidität der Körperzellen kam Ehrlich auf Grund der Erfahrung, daß viele Spontantumoren, auf sehr zahlreiche andere Tiere übertragen, auf keinem derselben angingen. Es ergab sich für ihn daraus die Folgerung, daß die transplantierte Spontantumorzelle gegenüber dem Durchschnittsorganismus der Mäuse keine höhere Avidität der Rezeptoren besitze.

In diesem Zusammenhang ist zu erwähnen, daß Apolant (l. c. [8]) aus den Resultaten von Versuchen von Bashford, Murray und Cramer im Gegensatz zu diesen Autoren selbst, sowie aus dem Ergebnis einiger eigener Experimente mit Wahrscheinlichkeit zu erkennen glaubt, daß Spontantumormäuse einen besseren Boden für körperfremde Spontantumoren darstellen, als normale Tiere.

Zusammenfassend ist gegenüber manchen Einwänden festzustellen, daß nach Ehrlichs (l. c. [14]) Anschauungen die spontane Entstehung einer Geschwulst ganz unabhängig von der Quantität der im Organismus vorhandenen Nährsubstanz ist. Aus der Tatsache, daß die gesteigerte Avidität eine stärkere Bindung von Nährstoffen bedingt, folgt nicht etwa umgekehrt, daß durch reich-

liche Ernährung die Avidität erhöht wird. Ohne primäre Aviditätssteigerung wird das Plus von Nährmaterial nicht assimiliert. Ja, selbst ein Überschuß an Nährsubstanzen bei gleichzeitig bestehendem Aviditätsdifferential zwischen den im Sinne der Geschwulstbildung prädisponierten und den normalen Körperzellen garantiert nicht ohne weiteres ein Tumorwachstum, denn die Nährsubstanzen müssen nicht nur vorhanden, sondern auch für die Tumorzelle disponibel sein.

Es sei in diesem Zusammenhange an die differente Empfindlichkeit verschiedener Blutkörperarten gegenüber der hämolytischen Wirkung des Kobragiftes erinnert, wofür die Ehrlichsche Schule die verschiedene Disponibilität des Lezithins bei gleichem Lezithingehalt gegenüber dem fermentativen Prinzip des Kobragiftes verantwortlich macht (s. S. 214).

Ganz allgemein gibt Ehrlich (l. c. [14]) der Überzeugung Ausdruck, daß allerdings entsprechend den Anschauungen Cohnheims und Ribberts aberrierende Keime bei dem enorm komplizierten Verlauf der fötalen und postfötalen Entwicklung außerordentlich häufig vorkommen, daß sie aber in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle, dank den Schutzvorrichtungen des Organismus, latent bleiben. Es müßten sonst die Geschwülste viel häufiger sein, als der tatsächlichen Erfahrung entspricht. Wenn aber diese Keime durch ein halbes Menschenleben im Verborgenen vegetieren, und wenn besonders das Karzinom im allgemeinen erst im späteren Lebensalter zur Entwicklung gelangt, so sieht Ehrlich darin einen Hinweis auf konstitutionelle Ursachen, vielleicht, im Sinne seiner Theorie, auf eine Herabminderung der vitalen Zellenergie, welche die athreptischen Funktionen aufhebt und so ein parasitenähnliches Wuchern bestimmter Zellen ermöglicht und erlaubt. Dabei hebt Ehrlich ausdrücklich hervor, daß uns die eigentlichen Ursachen der primären Entstehung einer malignen Zellumänderung für das Gros der Fälle unbekannt sind, daß sie aber höchstwahrscheinlich nicht einheitlich gedacht werden können.

### Athrepsie und menschliche Geschwulstpathologie.

Man sieht ohne weiteres, daß die im vorigen Abschnitt entwickelten Vorstellungen Ehrlichs (l. c. [1, 2, 14]) von der Bedeutung athreptischer Funktionen für die Geschwulstgenese für die menschliche Pathologie von Wichtigkeit sind.

Inwieweit es im übrigen möglich ist, auch in der Pathologie der menschlichen Geschwülste die Wirksamkeit athreptischer Funktionen zu erkennen, darüber ist noch wenig bekannt. Es sei vorsichtig auf

die Erfahrung hingewiesen, daß in manchen Fällen nach der chirurgischen Beseitigung ungewöhnlich bösartiger Tumoren (z. B. periostaler Sarkome der langen Röhrenknochen) die Ausbildung von Metastasen überraschend schnell auf die Operation folgt, derart, daß der Eindruck zurückbleibt, als habe, wie in den oben erwähnten Tierexperimenten von Pierre-Marie und Clunet, die Beseitigung des Primärtumors das Wachstum der Metastasen geradezu begünstigt. Wenn im übrigen im klinischen Bilde der menschlichen Tumoren viele der von Ehrlich bei transplantierten Geschwülsten im Sinne der Athrepsie gedeuteten Erscheinungen weniger deutlich hervortreten, so betont demgegenüber Ehrlich (l. c. [14]) selbst, daß die menschlichen Tumoren im allgemeinen viel zu klein seien und auch viel zu langsam wüchsen, um athreptische Wirkungen auszulösen. Schöne (Deutsche Klinik, Bd. 12) hat weiter die Aufmerksamkeit auf die Tatsache gelenkt, daß auch menschliche Metastasen in nicht seltenen Fällen lange Zeit auffällig klein bleiben. Man hat den Eindruck, daß sie sich nicht ungehindert entwickeln, während es allerdings auch gelegentlich den Anschein hat, als träte die Erkrankung plötzlich oder allmählich in ein Stadium ein, in welchem entweder die Schranken, welche bisher der Metastasenbildung entgegenstanden, fortgefallen seien, oder umgekehrt eine direkte Begünstigung des Anwachsens verschleppter Zellen stattfinde. Eine derartige Phaseneinteilung ist von Sticker auf Grund von Versuchen am Hunde genau erörtert worden. Ob bei allen diesen Vorgängen athreptische Wirkungen im Spiele sind, muß freilich dahingestellt bleiben. Schöne (Jahresbericht der Immunitätsforsch., 1906) hat außerdem in diesem Zusammenhang die allgemein bekannte Tatsache hervorgehoben, daß die Organe keineswegs gleichmäßig zur Metastasenbildung prädisponiert sind, daß vielmehr einzelne Karzinome eine auffällige Vorliebe zur Metastasenbildung in gewissen Organen zeigen.

So hat Ribbert darauf hingewiesen, daß sich zuweilen nach primärem Karzinom der Mamma oder nach Melanosarkom der Haut Metastasen nur oder fast nur in der Leber finden. Am bekanntesten ist die von Recklinghausen festgestellte Tatsache, daß Prostatakarzinome nicht selten in einer ganz merkwürdigen Weise in das Knochensystem, mitunter auch in andere blutbildende Organe metastasieren. Wichtig sind die eigentümlichen Skelettumoren von typischem Schilddrüsenbau, wie sie ohne maligne Degeneration der Schilddrüse selbst in Fällen von gutartigen Strumen oder normaler Thyreoidea gefunden werden. Zu ihrer Erklärung hat v. Gierke angenommen, daß sie ihren Ausgang von auf dem Blutwege verschleppten Schilddrüsenzellen nehmen. Andererseits stellte Martin Benno Schmidt in eingehenden Untersuchungen fest, daß Lungenmetastasen bei Magenkarzinom vielfach regressive Metamorphosen aufweisen. So beschrieb er die fast vollständige

bindegewebige Organisation eines Krebsembolus in der Lunge. Es wies ferner nach, daß das verschiedene Verhalten von Karzinom und Sarkom, insofern als die Metastasenbildung auf dem Blut- oder Lymphwege in Frage kommt, weniger auf einem verschiedenen Verhalten der beiden Geschwulstarten zum Lymph- und Blutgefäßsystem beruht, als darauf, daß im Falle des Sarkoms die in das Blutgefäßsystem eingebrochenen und in ihm verschleppten Zellen viel häufiger zu Metastasen auswachsen, als beim Karzinom.

Aus den angeführten Tatsachen zieht Schöne den Schluß, daß einzelne Organe entweder einen besonders günstigen Boden für das Geschwulstwachstum abgeben oder aber, daß andere in erhöhtem Maße die Fähigkeit besitzen, die in sie verschleppten Geschwulstzellen abzutöten. Auch v. Gierke, Axhausen und Askanazy sind der Ansicht, daß die auffallende Lokalisation der Metastasen in gewissen Organsystemen rein anatomisch nicht erklärt werden kann. Axhausen hat sich in dieser Frage vorsichtig im Sinne der athreptischen Immunität Ehrlichs ausgesprochen.

## II. Bakteriologie und allgemeine Biologie.

Ehrlich (l. c. [13]) hat zu wiederholten Malen darauf hingewiesen, daß seine Theorieen über den Einfluß der Athrepsie kein absolutes Novum darstellen, vielmehr mit der seinerzeit von Pasteur aufgestellten Erschöpfungstheorie der Immunität in einem inneren Zusammenhange stünden. Das Wesen der Theorie Pasteurs bestand in der Annahme, daß die Bakterien, sei es in einem natürlich resistenten normalen, sei es in einem immunisatorisch veränderten Organismus, gewisser Stoffe entbehrten, welche für ihr Wachstum unbedingt notwendig seien. Während Pasteur die tatsächliche Abwesenheit dieser Stoffe postulierte, hat Ehrlich den Gedankengang durch die Annahme verfeinert, daß diese Stoffe zwar vorhanden, daß aber die Bakterien nicht imstande seien, dieselben an sich zu reißen, oder mit anderen Worten, daß den Bakterien diese Substanzen nicht zur Disposition stünden.

Daß derartige Erscheinungen in der belebten Natur tatsächlich eine Rolle spielen, darüber kann ein Zweifel nicht bestehen. Es sei mit Ehrlich die Beobachtung erwähnt, daß manche Pflanzen selbst auf weite Entfernungen hin dem Boden Nährstoffe entziehen und damit das Gedeihen anderer Pflanzen in diesem Bezirk unmöglich machen. Es gilt dies u. a. vom Eukalyptusbaum (l. c. [6]). Schon dies Beispiel zeigt deutlich, wie Ehrlich seine Phantasie durch die verschiedensten Gebiete der Biologie schweifen ließ, um sich über die Bedeutung athrep-

tischer Einflüsse im Leben der Organismen klar zu werden. Aber er kehrte doch immer wieder zur Pathologie zurück und hat die Mühe nicht gescheut, in einzelnen, ihren verschiedenen Disziplinen entnommenen Beispielen den Mechanismus athreptischer Funktionen genauer darzustellen und zugleich zu kennzeichnen, eine wie umfassende Rolle er denselben im Ablauf pathologischer Erscheinungen zuspricht.

Es ist schon in einem der vorhergehenden Abschnitte kurz der Kobragiftwirkung und ihrer Erklärung gedacht worden. Sie stellt in der Tat ein ausgezeichnetes Beispiel für die Wirkung einer athreptischen Funktion im Sinne Ehrlichs dar[19]). Maßgebend für den Begriff der Athrepsie ist in diesem Falle das Moment der Indisponibilität des Lecithins. Für die Art und Weise, wie verschiedene Substanzen in Körperzellen indisponibel und disponibel vorhanden sein können, gibt Ehrlich (l. c. [19]) noch eine Reihe von Beispielen. So erinnert er daran, daß die normale und die verfettete Niere genau gleiche Mengen von Fetten und Lecithin enthalten, wie also der Akt der Verfettung nur darin bestanden habe, daß die organische Verbindung zwischen Eiweißstoffen und Lipoiden geschwunden sei. Ähnlich denkt er sich die Vorgänge beim Auftreten von Glykogen in Zellen unter verschiedenen pathologischen Verhältnissen. Für den Fall des Eindringens von Bakterien in den Organismus bedarf es nach Ehrlich (l. c. [19]) stets eines Kampfes, um viele in den Zellen nicht in freiem Zustande vorhandene Nährsubstanzen für die Bakterien disponibel zu machen.

Dies geschehe entweder durch direkte Assimilation infolge höherer Verwandtschaft oder aber indirekt durch Schädigung der Zelle, die nun z. B. unter dem Einfluß der Läsion Fett abspalte, das so den Bakterien zugänglich werde.

Ganz allgemein glaubt Ehrlich (l. c. [19]) ferner annehmen zu dürfen, daß das Absterben nicht pathogener Mikroorganismen im Tierkörper im wesentlichen athreptisch bedingt ist und zwar deshalb, weil sie dort nicht die notwendigen Ernährungsbedingungen vorfinden. Daß ein ähnliches Schicksal auch pathogene Mikroorganismen treffen könne, führt Ehrlich z. B. an der Syphilis aus. Nach den Feststellungen von A. Neißer lassen sich Affen von verschiedenen Hautstellen aus infizieren, dagegen gelingt es niemals, die Erkrankung durch subkutane oder intraperitoneale Infektion noch so großer Mengen von Impfstoff hervorzurufen. Zur Erklärung nimmt Ehrlich an, daß an und für sich das Blutserum der

[19]) Beitr. z. experim. Pathol. u. Therapie, S. 50 u. 117, Leipzig **1909** [*100*, *106*].

Affen zur Ernährung der Syphiliserreger nicht ausreiche, daß dagegen in bestimmten Zellen, z. B. in denen der Haut, auxiliäre für die Ernährung unbedingt notwendige Stoffe, vielleicht nur in minimaler Menge, vorhanden seien. Ehrlich erklärt ferner die mit großer Wahrscheinlichkeit zu vermutende spezifische Lokalisation der zum großen Teil vorläufig noch unbekannten Erreger einer Anzahl von Erkrankungen (Menschenpocke, Kuhpocke, Vogelpocke, Schafpocke, Maul- und Klauenseuche, Lyssa, Trachom, Hühnerpest, Scharlach) dahin, daß die Zellen, in welchen die Erreger eingeschlossen sind (Epithelzellen, Ganglienzellen) ebenfalls spezifische Auxiliärstoffe enthalten, während sonst im Organismus die Athrepsie vorherrscht.

Die Vogelpocke läßt sich von Huhn zu Huhn und von Huhn auf Taube, dann weiter von Taube auf Taube, aber nicht mehr von Taube auf Huhn fortzüchten. Eine ähnliche nicht absolute, sondern in gewissen Grenzen gehaltene Abschwächung der Virulenz findet auch bei der Pockenimpfung vom Menschen auf die Kuh statt. Zur Erklärung nimmt Ehrlich an, daß auch hier eine Form von Athrepsie in die Erscheinung tritt. Bei der Pockenimpfung vom Huhn auf die Taube werden die Rezeptoren, welche auf Nährmaterialien, die allein dem Huhn zukommen, eingestellt sind, außer Tätigkeit gesetzt; sie atrophieren, während die Rezeptoren für Taubenstoffe eine Vermehrung erfahren. Es handelt sich hier also um einen Schwund bestimmter für die Ernährung unumgänglich nötiger Rezeptoren. Wir werden später noch sehen, daß diese Annahmen Ehrlichs keineswegs rein theoretische sind, sondern auf den Ergebnissen sehr scharfsinnig erdachter Versuche mit Trypanosomen beruhen. Zunächst aber sei darauf hingewiesen, daß Ehrlich in demselben Sinne und generell die Veränderungen erklärt, welche bestimmte Tierpassagen in vielen Bakterien hervorrufen. Man kann bekanntlich durch wiederholte Passagen einen von der Maus stammenden Streptokokkenstamm in einen Kaninchenstamm, aus diesem aber auch wieder in einen Mäusestamm verwandeln. Im Gegensatz zu dem Fall der Hühnerpocke handelt es sich hier zwar auch um eine Athrepsie des Rezeptorenapparates der Bakterien, aber nicht um eine solche von dauerndem Charakter. Es ist ohne weiteres klar, daß dies dieselbe Erklärung ist, wie sie oben auch für die Adaptation der Geschwulstzellen an fremde Individuen oder fremde Tierrassen gegeben wurde.

## Trypanosomenstudien.

Eine hervorragende Stelle unter den Untersuchungen, durch welche Ehrlich tiefer in das Wesen der Athrepsie eingedrungen ist, nehmen seine Studien an Trypanosomen ein. Bekanntlich bezeichnet er die Rezeptoren, welche die Nährstoffe für die Zelle assimilieren, als Nutrizeptoren und sieht in ihnen, wie aus der Seitenkettentheorie näher bekannt ist, die Quelle der Antikörper. Er unterscheidet Nutrizeptoren, welche den allereinfachsten Funktionen dienen und nicht als Antikörper in das Blut übertreten, weiter solche welche auf dem Umwege einer Hyperregeneration zur Antikörperbildung führen, und schließlich die Erscheinung des Rezeptorenschwundes[20]), von welcher schon mehrfach die Rede gewesen ist, und die für die Theorie der Athrepsie von der größten Wichtigkeit wird.

Über den Rezeptorenschwund war nach Ehrlichs Angabe bis dahin nur die von H. Kossel berichtete Beobachtung bekannt, daß die Blutkörperchen von mit Aalserum immunisierten Kaninchen schließlich unempfindlich gegen dieses Gift wurden, eine Erscheinung, in der Ehrlich den Ausdruck des Verlustes der spezifischen Rezeptoren sah.

In Trypanosomenversuchen am Affen und an Mäusen stellte sich heraus, daß Trypanosomen serumfest werden können, wie es auch Kleine und Mesnil festgestellt haben.

Behandelt man mit Trypanosomen infizierte Mäuse mit einer nicht vollständig heilenden Dosis von Atoxyl, Arsacetin usw., so verschwinden zunächst die Trypanosomen aus dem Blute, und es läßt sich nachweisen, daß ihre Resorption zu einer Antikörperbildung führt. Überträgt man nach Eintritt des Rezidivs die so erhaltenen Trypanosomen einmal auf normale Mäuse, das andere Mal auf mit dem Ausgangsstamm infizierte und auf chemischem Wege vollständig geheilte Mäuse, also auf Träger der spezifischen Antikörper, so sieht man die Trypanosomen in beiden Reihen gleich gut angehen. Diese biologische Abänderung des Rezidivstammes ist es, welche Ehrlich als Serumfestigkeit bezeichnet. Sie ist erblich und bleibt den Trypanosomen durch lange Zeit hindurch erhalten, auch wenn sie in normalen Mäusen weitergezüchtet werden.

In mannigfach veränderten Versuchen ist es Ehrlich gelungen, sich ein Bild von dem Wesen dieses Vorganges zu machen. Er setzt in dem Ausgangsstamm eine bestimmte einheitliche Art von Nutrizeptoren von der Gruppe A in reichlicher Menge voraus. Bei der Resorption der abgetöteten Parasiten im Mäuseorganismus wirkt nun diese Nutrizeptorengruppe A als Antigen und erzeugt einen Antikörper,

[20]) Münch. med. Wochenschr., H. 5, **1909** [*109*].

welcher ihr spezifisch verwandt ist. Unter dem Einfluß der Besetzung mit diesem Antikörper erleiden die Trypanosomen eine Abänderung derart, daß der neue Stamm (Rezidivstamm) die Gruppe A verliert und dafür eine neue Nutrizeptorengruppe, die als B bezeichnet wird, erzeugt; denn, wenn man zwei Mäuse mit dem Rezidivstamm, welcher die Gruppe B enthält, infiziert, beide vollständig heilt und nun die eine Maus mit dem Ausgangsstamm, die andere mit dem Rezidivstamm selbst infiziert, so geht die Nachimpfung mit dem Ausgangsstamm (Gruppierung A) ohne weiteres an, während diejenige mit dem Rezidivstamm (Gruppierung B) zunächst versagt. Es handelt sich demgemäß um einen immunisatorisch erzeugten Rezeptorenschwund unter Bildung einer ganz neuen Rezeptorenart. Hier sei an die entsprechenden Ausführungen in dem Abschnitt über „Natürliche Resistenz" gegenüber Geschwulstimplantationen erinnert.

Das nähere Studium der Frage, wie die Antikörper die Trypanosomen beeinflussen, hat Ehrlich (l. c. [18]) dazu geführt, hier eines der schönsten Beispiele athreptischer Funktionen zu erkennen. Er hat sich davon überzeugt, daß die Antikörper in den Trypanosomen keineswegs direkte Giftwirkungen auslösen. Er unterscheidet auf Grund seiner Erfahrungen Trypanosomenrassen, die nur eine einheitliche Gruppierung A oder B oder C enthalten als Unionen von anderen Rassen, die deren 2, 3 oder mehrere, z. B. A und B oder A und B und C usw., enthalten, und die er als Binionen, Ternionen usw. bezeichnet. Es hat sich nun gezeigt, daß ein Binio mit A und B durch den isolierten Antikörper von A oder durch den isolierten Antikörper von B nicht geschädigt wird. Die Störung des Wachstums tritt erst ein, wenn beiden Antikörpern von A und B die Einwirkung auf das Trypanosoma ermöglicht wird. Es handelt sich also nicht um eine toxische Wirkung, sondern der Antikörper scheint nur dadurch zu wirken, daß er durch die Besetzung der betreffenden Gruppe die Zufuhr der Nährstoffe verhindert. Erst wenn beide Gruppen vollständig besetzt sind, verhungert der Parasit und stirbt ab. Bei unvollständiger Besetzung vegetiert das Trypanosoma eine Weile, und unter dem Einfluß des Hungers des Protoplasmas, also des sog. Hungerreizes, entwickeln sich potentielle Anlagen im Trypanosoma zu neuen Nutrizeptorengruppen, die nun den Rezidivstamm charakterisieren. Derartige Antikörper, welche rein antinutritiv wirken, bezeichnet Ehrlich als Athrepsine und er ist überzeugt, daß diese als sog. „Wuchsstoffe" ganz allgemein in der Biologie eine große Rolle spielen.

Nach einer anderen Richtung hin hat das Studium der arzneifesten Trypanosomenstämme[21]), [22]) (l. c. [18]) die Lehre von der Athrepsie vertieft. Es hat sich herausgestellt, daß man die Trypanosomen gegen alle als Heilstoffe in Betracht kommenden Agentien festigen kann. Es fragt sich, wie diese Festigung zustande kommt. Nehmen wir das Beispiel eines mit einem Atoxylderivat gegen Arsenikalien gefestigten Trypanosomenstammes. Der Stamm wird im Mäuseorganismus von diesen Medikamenten überhaupt nicht geschädigt. Im Reagenzglas aber zeigt sich, daß gewisse der Norm gegenüber höhere Konzentrationen ihn doch noch angreifen. Ja, es ist beobachtet worden, daß er im Reagenzglas der Giftwirkung gelegentlich sogar schneller erlag als der nicht gefestigte Kontrollstamm. Zur Erklärung dieses auffallenden Gegensatzes erinnert Ehrlich an seine prinzipielle Grundanschauung, daß, wenn ein beliebiges Gift, in diesem Falle das Arsenderivat, auf das Trypanosoma einwirkt, in diesem Trypanosoma chemische Gruppierungen vorhanden sein müssen, die das Gift an sich reißen, und welche er im Gegensatz zu den bei der Entstehung von Antikörpern tätigen Nutrizeptoren als Chemozeptoren bezeichnet. Ebenso muß der Mäuseorganismus Chemozeptoren für Arsenikalien besitzen, da auch er der Giftwirkung des Arsenderivats unterliegt. Im trypanosomenhaltigen Mäusekörper handelt es sich also um eine Verteilung des Arsenikals zwischen Parasiten und Organismus. Überwiegt die Affinität der Maus, so bleibt die Wirkung auf die Trypanosomen aus. Der Heilerfolg ist der Ausdruck des Differentials zweier Affinitäten.

In den festen Stämmen handelt es sich nicht um einen vollkommenen Schwund der Chemozeptoren in den Trypanosomen. Da im Reagenzglasversuch die festen Stämme dem Arsenikal gegenüber empfindlich bleiben, so kann es sich nur um eine Herabsetzung der Avidität der Chemozeptoren handeln, derart, daß das Verteilungsverhältnis zugunsten des Organismus verschoben ist. Die Avidität der Chemozeptoren in den Trypanosomen stellt sich mit der größten Feinheit derart auf die „Contrebalance des Mäuseorganismus" ein, daß in der Maus kein Arsen mehr für die Trypanosomen disponibel ist.

Die Feinheit dieser Einstellung hat sich des weiteren in der überraschenden Tatsache gezeigt, daß ein von Ehrlich gegen Arsenikalien in der Maus gefestigter Trypanosomenstamm in Liverpool zwar in der Maus die Festig-

[21]) Beitr. z. experim. Pathol. u. Therapie, S. 50, Leipzig **1909** [*100*].

[22]) Ebenda S. 97 [*101*].

keit erwies, aber nicht in der Ratte. Die Erklärung ergibt sich aus der Annahme, daß die Avidität des Rattenorganismus gegenüber den Arsenderivaten geringer ist, als diejenige der Maus, so daß die Parasiten in der Ratte noch imstande waren, das Gift an sich zu fesseln. Übrigens hat Mesnil gezeigt, daß nunmehr die bei der Maus nicht mehr zu steigernde Festigkeit bei der Ratte doch noch zu erreichen ist. Auch diese Tatsache erklärt sich ohne weiteres im Zusammenhange mit dem Vorhergehenden.

Da sich auch die Trypanosomen eines längere Zeit mit Atoxyl behandelten Falles von Schlafkrankheit bei der Tierprüfung als arsanilfest erwiesen haben, so ergibt sich ohne weiteres der Wert der athreptischen Vorstellungen Ehrlichs auch für dieses Gebiet der menschlichen Pathologie. Im übrigen dürften die Trypanosomenstudien die allgemein pathologische Bedeutung der ganzen Frage besonders deutlich erkennen lassen.

## Parabiose.

Sauerbruch und Heyde haben bei in Parabiose lebenden Kaninchen eine eigentümliche Ernährungsstörung beschrieben, welche auch Morpurgo bei Ratten, Schöne bei Mäusen wiederholt gesehen haben. Während das eine Tier im Laufe der Zeit ein Längenwachstum von mehreren Zentimetern aufwies, hatte das andere, wenn überhaupt, nur eine sehr geringe Längenzunahme erfahren. Während sich der eine Partner gut entwickelte, magerte der andere rasch ab; Fettpolster und Muskulatur wurden immer dürftiger, bis schließlich der eine Gefährte nur wie ein lebendes Anhängsel des kräftigeren Tieres erschien.

Zur Erklärung dieser eigentümlichen Erscheinung denken die Autoren an mehrere Momente, einmal an biologische Eiweißdifferenzen, denen gegenüber die einzelnen Tierarten verschieden empfindlich sind, weiter aber auch an athreptische Vorgänge im Sinne Ehrlichs. Dafür, daß toxische Wirkungen eine Rolle spielen können, spricht manches, z. B. das von Eller unter Heydes Leitung festgestellte Verhalten des Blutes bei den parabiotischen Tieren, welches den Schluß zuläßt, daß die gegenseitigen Einwirkungen der beiden Partner auf einander zu Blutveränderungen führen können, die dem Bilde einer toxischen Anämie entsprechen.

Ehrlich selbst hat Sauerbruch und Heyde eine Erklärung im Sinne der Athrepsie an die Hand gegeben. Er faßt die mangelhafte Entwicklung und Abmagerung des einen Tieres als eine Folge ungenügender Ernährung auf. Dadurch, daß der eine Partner die Nährsubstanzen auf Kosten des anderen an sich reißt, verhält er sich zu diesem wie ein Parasit. Welcher Art die wachstumspendenden Stoffe sind, ist nicht entschieden, insbesondere nicht, ob

es sich dabei um bestimmte Wachstum auslösende Substanzen handelt oder um alle wichtigen Nahrungskomponenten. Heyde erinnert daran, daß bei den natürlichen Doppelmißbildungen ähnliche Verhältnisse beobachtet werden, und daß auch hier unter Umständen der eine Zwilling gegenüber dem anderen in der Entwicklung wesentlich zurückbleibt.

In unserem Zusammenhang sind ferner Untersuchungen von Interesse, die über das Tumorwachstum bei Parabiosetieren angestellt worden sind.

Kraus, Ranzi und Ehrlich impften im Fall einer Parabiose zwischen einer Tumorratte und einer normalen Ratte nach 7 Tagen beide Tiere nach, mit dem Erfolg, daß die nachgeimpften Tumoren nicht angingen, während die Kontrollen eine gute Ausbeute ergaben. Albrecht und Hecht fanden in einer großen Versuchsreihe bei Mäusen, daß die Parabiose auf das Tumorwachstum hemmend einwirkte, gleichgültig, ob die Parabiosevereinigung der Impfung vorherging oder ihr nachfolgte. Nach Trennung der Tiere steigerte sich das während der Verbindung gehemmte Geschwulstwachstum schnell und in sehr erheblichem Maße.

Die Deutung dieser Versuchsresultate erscheint vorläufig noch unsicher, dagegen spricht das Ergebnis von Experimenten von Lambert vielleicht im Sinne der Athrepsie Ehrlichs. Er sah nämlich das Wachstum von Mäusetumoren auf Ratten, welche mit Mäusen in Parabiose lebten, gegenüber der Norm deutlich gesteigert und verlängert. Allerdings muß gleichzeitig betont werden, daß weder Enderlen, noch Schöne eine Begünstigung homöoplastischer Transplantationen durch Parabiose erzielen konnten. Schöne hat bei einer großen Zahl von in Parabiose lebenden Mäusen Haut zwischen den jeweiligen Partnern ausgetauscht, konnte sich aber nicht davon überzeugen, daß diese Transplantationen besser gelangen als bei normalen Tieren. Selbst wenn die Partner aus einem Wurf stammten, gelang die Hautübertragung nicht häufiger als sonst unter Geschwistern.

## Normales Wachstum.

Zum Schluß wollen wir noch kurz auf einige Punkte im Problem vom normalen Wachstum hinweisen, welche Ehrlich und seine Schüler (l. c. [16]) unter den Gesichtspunkten der Lehre von der Athrepsie aufzuklären versucht haben. Es handelt sich im wesentlichen um die Frage, inwieweit für die Auslösung des Wachstums besondere Substanzen in Betracht kommen. Ehrlich unterscheidet in dieser Beziehung die Stoffe in zwei Gruppen: 1. Substanzen, die nach einmaliger Wirkung ein dauerndes Wachstum auslösen,

sog. Wuchsstoffe; 2. Substanzen, deren fortdauernde Anwesenheit für das Wachstum erforderlich ist und die als spezifische Nährstoffe höherer Ordnung bezeichnet werden.

In die erste Gruppe gehören z. B. die oben ausführlich besprochenen Athrepsine (l. c. [20]), spezifische Antikörper, welche bei Trypanosomen den Schwund gewisser Nutrizeptorengruppen und die Entstehung neuer vererbbarer Nutrizeptorenapparate veranlassen und so die Erscheinung der Serumfestigkeit begründen. Hierher gehört ferner nach Moreschi die Beobachtung Reinkes über Wucherungen des Linsenepithels usw. bei Salamandern nach einmaliger Applikation von Äther. Auch Askanazy hat ein vermehrtes Wachstum von experimentellen Rattenteratoiden nach einmaliger Einwirkung von Äther auf den Impfbrei gesehen. Ähnliche Erfahrungen machte Lubarsch bei echten transplantablen Geschwülsten. Es scheint also in der Tat chemisch wohl charakterisierbare Substanzen zu geben, deren einmalige Einwirkung eine dauernde Umstimmung des Wachstums hervorruft.

Zur Illustrierung der Wirkung von Substanzen, deren dauernde Anwesenheit für das Wachstum erforderlich ist, sei mit Moreschi auf die Beobachtungen von Sachs, Goebel und Winkler hingewiesen, daß gewisse Blattstecklinge früher blühen, wenn die Blätter blühreifen Pflanzen entnommen wurden. Bereits Sachs hatte zur Erklärung spezifische organbildende Substanzen angenommen. Auch Askanazy hat zur Deutung einer menschlichen Mißgeburt, bei welcher sich neben fast vollständiger Anencephalie eine Durchsetzung der Lunge mit Gliomen fand, die Vermutung ausgesprochen, daß die normalerweise vom Gehirnwachstum im Kopf notwendig verbrauchten bestimmten chemischen Substanzen in diesem Fall von den auf dem Blutwege in die Lunge verschleppten heterotopen Hirnkeimen in Anspruch genommen worden seien und so gleichsam das Wachstum des Gehirns in der Lunge ermöglicht hätten. Man sieht, daß es sich hier um Gedankengänge handelt, die in engstem Konnex mit der Ehrlichschen Lehre von den athreptischen Funktionen stehen. Wenn normalerweise verschleppte Parenchymzellen zugrunde gehen, so hat Moreschi (l. c. [16]) demgegenüber den Zustand, in welchem sich in diesem Fall die in die Lunge verschleppten Gliomzellen befinden, als den einer Hyperthrepsie bezeichnet.

Schließlich sei noch an das schon einmal erwähnte Beispiel des Influenzabazillus erinnert, der ohne Hämoglobin nicht wächst. Wie die

Hormone Starlings, die Produkte der Schilddrüse, der Thymus usw. zu beurteilen sind, steht noch dahin.

---

Hiermit ist die Aufgabe, die wir uns gestellt haben, erfüllt. Wir haben gesehen, daß Ehrlich ähnlich wie in den Arbeiten, welche ihn zur Aufstellung der Seitenkettentheorie und zur Begründung der modernen Chemotherapie geführt haben, ausgehend von bestimmten überall wiederkehrenden Grundgedanken, durch Beobachtung, Phantasie und konsequentes ihn selbst fortreißendes Nachdenken dazu gelangte, der Lehre von der Athrepsie eine grundlegende Bedeutung für große Gebiete der Pathologie und Biologie beizumessen. Die Betrachtung seiner Forschung auch auf diesem Felde hinterläßt den Eindruck einer ungewöhnlichen Konzentration geistiger Tätigkeit. Jeder, der sich Ehrlichs Schüler nennen darf, und der ihn an der Arbeit gesehen hat, erkennt in dieser Eigenschaft eine der wesentlichsten Vorbedingungen wissenschaftlicher Erfolge.

E.

# Chemie und Biochemie.

1.

# Einleitender Überblick.

Von

**R. Willstätter,**
Berlin.

Vor unseren Augen erheben sich die Bilder großer Denker und Künstler früherer Zeiten, wenn wir in den Schilderungen dieses Buches die Universalität der Arbeit Paul Ehrlichs bewundern, und wenn wir in seinem Wirken als Chemiker die Vielseitigkeit, bei aller Vielseitigkeit aber die Vertiefung in die Aufgaben der organischen Chemie kennen lernen. In den einzelnen Kapiteln der Festschrift wird zutage treten, in welchem Maße Paul Ehrlich die Chemie den biologischen und medizinischen Disziplinen dienstbar gemacht; unser Abschnitt wird vor allem erkennen lassen, in welchem Umfang die reine Chemie in Ehrlichs Laboratorium gepflegt wird, und mit welchem Erfolge sie neue Anregungen und Kräfte aus den medizinischen Wissenschaften zieht. Der Begründer der Chemotherapie ist zugleich ein Erneuerer der Iatrochemie.

Als Chemiker ist Paul Ehrlich keines anderen Meisters Schüler; er wird von keiner Strömung seiner Zeit getragen oder auch nur beeinflußt; durch die Intuition und Kraft seiner Person werden uns weite neue Gebiete erschlossen. Große aussichtsreiche Straßen sind hindurch gebahnt; es ist ein Vergnügen, sie zu wandeln und das Erschlossene zu überblicken. Die chemischen Arbeiten, über die im folgenden referiert wird, gehören einem kurzen Zeitraum an, etwa zwei Jahrzehnten. Das Werk ist noch im Wachsen, jeder Band unserer Zeitschriften bringt uns weitere Mitteilungen, methodisch Neues und wertvolle neue Körpergruppen. Eine bedeutende Schule von Chemikern schart sich um Ehrlich in seinen beiden Frankfurter Instituten. Gemeinsam mit den Herren Benda, Bertheim, Kahn, Karrer u. a. erweitert und vertieft unser Jubilar seine Untersuchungen über Farbstoffe, über Farbreaktionen, über Arsenverbindungen. Allein die Arbeit erschöpft sich

nicht im Ausbau schon abgesteckter Gebiete; die jüngsten Angaben über Antimonverbindungen und bemerkenswerte Andeutungen über komplexe Metallverbindungen eröffnen die Aussicht auf neue Probleme von theoretischer und praktischer Wichtigkeit.

In seinen Methoden der vitalen Färbung hat Ehrlich die organischen Farbstoffe mit Meisterschaft gehandhabt. Die Liebe zu den Farbstoffen und ihre beherrschende Kenntnis charakterisiert wie den Biologen auch den Chemiker Ehrlich, den sie zur Auffindung mannigfacher chromophorer Atomgruppen leitet.

Eine seiner frühesten chemischen Abhandlungen, worin Ehrlich gemeinsam mit Einhorn Farbstoffe untersucht hat, die sich vom Kokain ableiten ließen, zeigt ein Überleiten von den Ergebnissen der Gewebefärbung zu rein chemischer Fragestellung, wie sie dann zutage tritt in den Studien über die Kondensation aromatischer Nitrosoverbindungen mit Methylenderivaten. Ehrlich beobachtete die Reaktion negativ beeinflußter Methylengruppen mit p-Nitrosodimethylanilin und eröffnete gemeinsam mit Franz Sachs ein außerordentlich fruchtbares Feld, das viele Arbeiten von Sachs und seinen Schülern, von Pröscher u. a. Jahre hindurch pflegten. Das Interesse der Reaktion ist nach zwei Seiten bedeutend. Für die Lösung von Konstitutionsfragen bedürfen wir der Methoden zur Bestimmung von Methylenresten; so hat sich, um an ein Beispiel zu erinnern, unsere Auffassung von der Konstitution des Atropins und des Kokains aus einer Prüfung der reaktionsfähigen Methylengruppen im Tropinon ergeben. Andererseits sind die Kondensationsprodukte der Nitrosodialphylaniline, welche zu den Azomethinen zählen, als Zwischenprodukte für die Umwandlung von Methylen in Karbonyl sehr geeignet, so daß viele Diketone und Polyketone mit der neuen Methode zugänglich geworden sind.

Ebenso ersprießlich und einflußreich war Ehrlichs Entdeckung von Reagentien, welche mit Pyrrol und seinen Substitutionsprodukten kuppeln unter Bildung von Azofarbstoffen und Farbstoffen einiger anderer Gruppen. Schon im Jahre 1883 hatte Ehrlich beobachtet, daß Diazobenzolsulfosäure mit Bilirubin kuppele. Die „Diazoreaktion" des Harnes, die Ehrlich später durch die präparative Darstellung der Farbstoffe aus Bilirubin mit Diazoverbindungen gründlicher verfolgen ließ, hat in allen neueren Untersuchungen über die Pyrrolderivate, wie sie beim Abbau des Blutfarbstoffes, der Gallenfarbstoffe und des Chlorophylls auftreten, die wichtigste und häufigste Anwendung gefunden. Die Reaktion ist bei den Hämopyrrolen am erfolgreichsten von Hans Fischer ausgebaut worden.

Gleichfalls für die Reihe physiologischer bedeutsamer Pyrrolab-

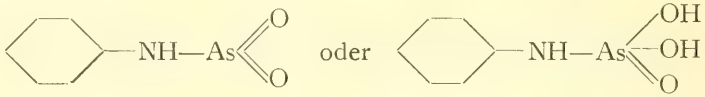
kömmlinge ist der Dimethylaminobenzaldehyd ein sehr nützliches Reagens geworden, seitdem Ehrlich die „Dimethylaminobenzaldehydreaktion" bei der Untersuchung pathologischer Harne entdeckt hat. Hier handelt es sich um eine Aldehydkondensation, die mit der alten Fichtenspanreaktion der Pyrrole parallel geht, an Präzision und Umfang der Anwendung diese übertreffend. Sie ergab Farbstoffe, welche in ihren Eigenschaften und vielleicht auch konstitutionell an die Triphenylmethane erinnern und weiterer Untersuchung wert sind.

Zu den merkwürdigsten Kondensationsreaktionen zählen die von Ehrlich entdeckten Kuppelungen der Orthonaphtochinonsulfosäure, die sog. Ehrlich-Hertersche Reaktion. Welche Fülle von Anwendungen, z. B. zum Nachweis von Anilin, zur Substitution sauerer Methylengruppen, zur Umwandlung von Alkaloiden in Farbstoffe, zieht Ehrlich aus diesen Beobachtungen. So überraschend und schön die Kondensationen und Farbstoffbildungen mit dem Reagens sind, so schwierig sind sie zu interpretieren, und mancher Chemiker hätte sich dadurch abhalten lassen, diesen Farbreaktionen näher zu treten. Es mag auch für manche andere Farbstoffarbeiten Ehrlichs gelten, so für die Untersuchungen in der Pyroninreihe und in der Akridinreihe, daß sie in Gruppen recht kompliziert zusammengesetzter organischer Verbindungen führen, deren Konstitutionsformeln im allgemeinen nur dem Spezialisten geläufig sind.

Einer großen Anzahl dieser chemischen Arbeiten ist gemeinsam die Ermittlung und Ausnutzung der kondensationsfähigen Stelle einer bekannten Substanz oder einer in Geweben oder Sekreten vorkommenden unbekannten Substanz. Auf den reaktionsfähigen Ort mit kuppelnden Reagentien zu zielen, wird in vorbildlicher Weise gelehrt. So führt ein einheitlicher Grundgedanke, in der klarsten Form ausgedrückt in dem vor der deutschen chemischen Gesellschaft am 31. Oktober 1908 gehaltenen Vortrag: „Über den jetzigen Stand der Chemotherapie", von den Farbstoffinjektionen und der Verfolgung ihrer Lokalisation in den Geweben in vielgestaltiger Methodik bis zu den letzten Arbeiten auf dem Gebiete der Chemotherapie. Analog den Farbstoffen von spezifischer Tropie, wie den neurotropen und den lipotropen, werden organotrope, neurotrope und parasitotrope, im besonderen spirillotrope Stoffe unterschieden. Die Vorstellung der primären Verankerung der Toxine führt zum Prinzip der spezifischen Bindung und zur Seitenkettentheorie; das physiologische Experiment wird durch eine chemische Anschauung befruchtet. Zugleich gewinnt die chemische Synthese, welcher die vielseitige Variation der in Betracht kommenden Substanzen als Aufgabe zufällt, ihre Wegleitung, die Organotropie zu mindern, die Parasitotropie

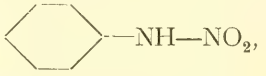
zu erhöhen, also auf den Parasiten möglichst isoliert zu zielen. Ehrlichs chemisches Meisterwerk, die gemeinsam mit Bertheim und anderen Chemikern ausgeführte Bearbeitung der Arylarsenverbindungen bietet für die Begründung und Anwendung dieses Prinzips das hervorragendste Beispiel. Die Erschließung des Gebietes aber ist auf eine ganz besondere und sehr bemerkenswerte Art erfolgt, nämlich durch Aufstellung der richtigen Konstitutionsformel für eine falsch gedeutete Substanz.

In den Laboratorien von Béchamp und von Michaelis vor Jahrzehnten geboren, waren die ersten aromatischen Arsenverbindungen in einen tiefen Dornröschenschlummer gesunken; erweckt hat sie Ehrlich wie mit einem Zauberworte durch die Angabe der Struktur der Arsanilsäure. Diese Säure hatte zuerst im Jahre 1863 Béchamp, dessen Arbeiten in Deuschland zu wenig beachtet wurden, durch Einwirkung von Arsensäure auf Anilin erhalten; im Jahre 1902 wurde sie von den Vereinigten chemischen Werken Charlottenburg in der Form des Natriumsalzes als Atoxyl in den Handel eingeführt. Die Verbindung galt als Anilid der Arsensäure, der Meta- oder der Orthosäure, nach einer der Formeln:

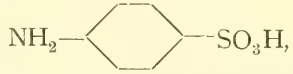



Wäre sie so konstituiert, so könnte die Verbindung für sich ja interessant sein, aber sie würde nun und nimmer Bedeutung gewinnen als Grundlage für chemische Variationen.

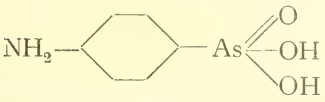
In einer ausgezeichneten Arbeit haben Ehrlich und Bertheim die Konstitution dieser Arsenverbindung mit einer Fülle zwingender Argumente aufgeklärt. Wie irgendein aromatisches Amin ließ sie sich durch salpetrige Säure diazotieren und danach mit Phenolen zu Analogen der bekannten Ponceaus und Bordeaux kuppeln. Hier lag also kein Anilid, kein Säureamid vor; ist es doch noch in keinem Falle gelungen, aus einem Säureamid eine Diazoverbindung abzuleiten. Der stickstoffhaltige Rest der Arsanilsäure ist eine primäre, kernsubstituierende Aminogruppe, die Verbindung ist kein Analogon des Nitranilids




sondern der Sulfanilsäure

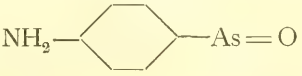



nämlich Anilin, in dessen Kern, und zwar parasubstituierend, die Arsensäure eingetreten ist, also p-Aminophenylarsinsäure:

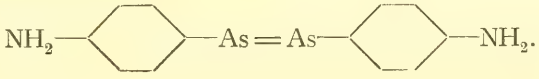


Der üblich gewordene Vergleich des arsenierten Anilins mit dem sulfurierten kennzeichnet übrigens keineswegs gut und erschöpfend die Rolle der Arsanilsäure. Der Vergleich wird sogar, wenn man ihm zu weit folgt, irreführend und er läßt die Bedeutung der Arsenverbindung gewaltig unterschätzen. Die Sulfanilsäure ist wohl eines der meist verwendeten Anilinderivate, aber man verarbeitet und veredelt nicht ihre Sulfogruppe, sondern nur den Aminorest. Dasselbe gelingt natürlich auch bei der Aminophenylarsinsäure, da man sie alkyliert, acyliert, diazotiert und mit den verschiedensten Phenolen und Aminen zu einem Heer von Azofarbstoffen gekuppelt hat. Aber dies alles ist nebensächlich. Vergleichen wir lieber die Arsanilsäure mit dem Nitrobenzol. Diese Parallele drückt das Wesentliche aus und eröffnet weitere Ausblicke. Der Arsensäurerest selber bietet sich nämlich genau entsprechend der Nitrogruppe für die mannigfaltigsten Umformungen dar, und gerade diese Umwandlungen des Arsensäureradikals sind die interessantesten und praktisch bedeutsamsten. Daß die Verbindung mit fünfwertigem Stickstoff in der Form , das Derivat des fünfwertigen Arsens in der Hydratform (wie eine Phosphenylsäure) auftritt, ist dabei unerheblich.

Seit der ersten Mitteilung über die Aminophenylarsinsäure aus dem Laboratorium des Georg Speyer-Hauses sind sechs Jahre verflossen. In dieser Zeit ließ sich Paul Ehrlich wesentlich von der Anschauung tragen, daß im Organismus Arsensäure und ihre Derivate durch Reduktionsprozesse Umwandlungsprodukte toxischer Art, Verbindungen mit dreiwertigem Arsen, bilden, die alsbald gegen Parasiten eine starke Wirkung ausüben. Daher waren es die Reduktionsprodukte der Arsensäurederivate, welche die größte Beachtung verdienten. Die Untersuchung wandte sich mit wuchtigem Antrieb den Verbindungen des dreiwertigen Arsens zu, den Arsinoxyden



und den Arsenobenzolen



Die Erwartung ging glänzend in Erfüllung; die reaktionsfähige Gruppe der Parasiten verankert den dreiwertigen Arsenrest dieser Körper, nicht aber das fünfwertige Arsen der Aminophenylarsinsäuren. Unter diesen Arsenikalien gewannen überragenden Wert die amidierten und hydroxylierten Arsenobenzole, und zwar erwiesen sich die Verbindungen mit orthoständigem Amin und Hydoxyl als hervorragende Spezifika gegen die Spirillosen. Gegen Ende des Jahres 1910 konnte das 3—3'-Diamino-4—4'-Dioxyarsenobenzol, dargestellt von Ehrlich und Bertheim, den Ärzten zur Verfügung gestellt werden; unter der Laboratoriumsbezeichnung „Ehrlich-Hata 606" und dem Namen „Salvarsan" ist es berühmt geworden.

Der schwierige und weite Weg von der Arsanilsäure bis zum Salvarsan wird in einem der nächsten Abschnitte von der berufensten Feder geschildert. Die Wanderung auf dieser Strecke ist eine bewunderungswürdige Tat der von biologischer Fragestellung und Methodik geleiteten chemischen Synthese. Niemand wird die Bedeutung des Vollbrachten verkennen, der von den Möglichkeiten und den Schwierigkeiten der Synthese Kenntnis hat.

In einem unerforschten Lande von unermeßlicher Ausdehnung lag ein erstrebenswerter Punkt. Ehrlich hat den Kompaß erfunden, der den Marsch dahin ermöglichte, und er hat den Pol erreicht.

Die Chemiker kannten im allgemeinen nur zwei Wege der Arzneimittelsynthese. Sie bemühten sich, manche durch ihre Wirkung wertvollen Naturprodukte zu synthetisieren. Aber die Konstitution gerade der wichtigsten Alkaloide ist so kompliziert, daß die Synthese entweder noch unausführbar, oder daß sie zu umständlich ist, als daß sie in die Technik Eingang finden könnte. Daher zog man es vielfach vor, das Molekül eines Alkaloids unter Erhaltung seiner spezifischen Wirkung vereinfachend nachzuahmen; das Kokain und Tropakokain haben als Trabanten die Eukaine, Orthoforme, Novokain und Stovain. Paul Ehrlichs Wirken begründet nun nicht allein eine neue, fruchtbare Methode der Pharmakologie, es hat zugleich den großen Einfluß, durch biologische Leitlinien das endlos ausdehnbare Material der synthetischen Chemie in aussichtsvolle Bahnen zu lenken und der Synthese neue segenbringende Aufgaben zu stellen.

In seinen chemischen Arbeiten hat Paul Ehrlich in bewunderungswürdigem Aufstieg Höhen erreicht, nicht einen Abschluß; der ungeschwächten Tatkraft des Meisters wünschen wir reichen künftigen Erfolg.

2.

# Chemie.

**(Mit Ausschluß der Arsenverbindungen.)**

Von

**L. Benda,**
Frankfurt a. M.

Betreten wir Ehrlichs Laboratorium, so sehen wir zu unserer Überraschung, daß hier manches fehlt, was sonst zum Bestand eines chemischen Laboratoriums gerechnet wird.

In einem mittelgroßen Raum befindet sich ein mächtiger Tisch, auf dem — eng aneinandergereiht — viele Hunderte von Flaschen und Fläschchen mit den verschiedenartigsten Substanzen stehen: anscheinend ein unentwirrbares Chaos, in dem aber Ehrlich, der die Präparate nach einem originellen System geordnet hat, sich vollkommen zurechtfindet.

Aus diesem Meer von Gläsern ragt einsam heraus ein großer Bunsenbrenner. Daneben steht ein Kästchen mit Reagenzgläsern. Einige Regale an der Wand mit den gebräuchlichen Reagenzien und Solvenzien vervollständigen die Einrichtung des Laboratoriums, in welchem Ehrlich ohne Assistenz arbeitet.

Kolben und Retorten, Trichter, Bechergläser, Schalen, Kühler, Thermometer und alle anderen Geräte, die sonst zum Handwerkszeuge des Chemikers gehören, würde man hier vergeblich suchen. Ehrlich bedient sich seit Jahren fast ausschließlich des Reagenzglases, um seine orientierenden Beobachtungen zu machen. Das einfache Instrument genügt ihm, um fast jede Reaktion soweit zu verfolgen, daß er sich die richtige Ansicht über deren Verlauf bilden kann. Er ist ein Virtuos in der Kunst des Reagenzglasversuches.

So hat er, um nur eines aus dem vielen herauszugreifen, hier im Reagenzglasversuch festgestellt, daß das Atoxyl nicht, wie man bis dahin geglaubt hatte, eine Arsensäureanilid, sondern daß es ein primäres Amin ist; er hat eben diese Substanz mit seinem Lieblingsreduktionsmittel, dem

Natriumhydrosulfit, im Reagenzglase in das bis dahin unbekannte Diaminoarsenobenzol übergeführt, und er hat mit diesen beiden Reagenzglasversuchen den Grundstein zu dem Gebäude der modernen Arsenchemie und Arsentherapie gelegt.

Wenn Ehrlich eine Reaktion gefunden hat, die ihm interessant genug erscheint, weiter verfolgt zu werden, so teilt er seine Beobachtungen einem Freunde oder Mitarbeiter mit und nun folgt die Disposition des Arbeitsprogramms. — Jeden Tag wenigstens einmal erscheint Ehrlich in den — im Gegensatz zu seinem eigenen Arbeitsraum mit den allermodernsten Einrichtungen ausgestatteten — Laboratorien seiner Assistenten und bespricht mit letzteren den Fortgang der Untersuchungen.

Das Zusammenarbeiten mit Ehrlich ist ein Vergnügen. — Die Zähigkeit, mit der er einen Gedanken verfolgt, ein Problem anpackt und festhält, bis er es gelöst hat, wirkt suggestiv auf den Mitarbeiter. Der Optimismus, von dem er erfüllt ist, und der ihn davor bewahrt, sich von Enttäuschungen — die ja jedem Forscher beschieden sind — niederdrücken zu lassen, überträgt sich auf seine Schüler. — Wie oft, wenn ein Präparat, auf das wir große Hoffnungen gesetzt hatten, sich als zu giftig, als zu wenig wirksam erwies, wenn der Quotient von Dosis curativa: Dosis tolerata zu groß ausfiel, ermutigte er uns: „Wenn wir jetzt noch Chlor einführen oder wenn wir die Sulfogruppen eliminieren, dann haben wir, was wir brauchen." Und wir schöpften neuen Mut, führten Chlor ein, eliminierten Sulfogruppen und — erreichten häufig das Ziel.

Auch die Freude, die Ehrlich empfindet und die man ihm vom Gesicht ablesen kann, wenn man ihm ein besonders schön kristallisierendes Präparat oder eine leuchtende Ausfärbung eines neuen Farbstoffes bringt, wirkt auf den Mitarbeiter wohltuend und spornt ihn zu neuen „Taten" an.

Ehrlich ist als Chemiker Autodidakt; aber er ist der „geborene Chemiker". Die so glückliche Verschmelzung des hervorragenden Biologen und Mediziners mit dem Chemiker, wie wir sie in der Person Ehrlichs und sonst wohl kaum ein zweites Mal wieder vor uns haben, ist den beiden Disziplinen, der chemischen, wie der medizinischen, zugute gekommen.

Aber auch die Industrie dankt Ehrlich manche Anregung; wir können es uns nicht versagen, hier die wundervollen Worte wiederzugeben, die Heinrich Caro vor 23 Jahren schon in seinem Vortrag: „die Entwicklung der Teerfarbenindustrie" (gehalten vor der Deutschen Chem.-Gesellschaft) (Chem. B. XXV, R. 1087) darüber gesagt hat. — Caro erwähnt die Oxazinfarbstoffe, darunter das aus α-Naphtylamin und Nitrosodimethyl-meta-aminophenol erzeugte Nilblau und fährt dann fort:

„Die Entdeckung dieses Farbstoffes und der ihm vorangegangenen Rhodamine ist auf einen jener Impulse zurückzuführen, welche die Entwicklung

der Farbstoffindustrie so oft von der ihrer Nutzanwendungen empfangen hat. Doch kam die Anregung diesmal nicht aus den Kreisen der großen Färber, die für jeden Faserstoff mit besonderer Verwandtschaft begabte Farbstoffe verlangen. Von den einsamen Forschern ging sie aus, die mit dem Mikroskop die geheimsten Lebensvorgänge ergründen, uns eine Welt unsichtbarer Feinde erschließen und der Heilkunst die wissenschaftlichen Grundlagen schaffen. Auch unter den Händen der Histologen, der Bakteriologen und ihrer Verwandten, war seit der Entstehung der Anilinfarben eine hochentwickelte Färbereitechnik entstanden. Von dem spärlichen Gebrauch unlöslicher Pigmente war man zur Sichtbarmachung, zur Unterscheidung der feinsten und verzweigtesten mikroskopischen Strukturen durch spezifische Färbungen mit den intensiven, löslichen, leicht verwendbaren und chemisch scharf charakterisierten Teerfarbstoffen fortgeschritten. — Wie im großen, so färbte man hier im kleinen, heiß oder kalt, beizte, überfärbte, machte Doppelfärbungen und farbige Enlevagen, avivierte, entfärbte, bis ein klares, buntfarbiges Muster entstanden war, dessen zusammengehörige Striche sich nunmehr leicht verfolgen ließen. Wer wüßte nicht, wie Koch mit Hilfe solcher Färbungen die gefürchteten Bazillen der Tuberkulose und der Cholera entdeckte. Ihm leistete das Methylenblau gute Dienste. Denselben Farbstoff wendete nun Ehrlich an, um die Funktion der lebenden Nervensubstanz zu ergründen. Er fand, daß nur das Methylenblau und dessen kurz zuvor von Bernthsen erhaltene Derivate die lebenden Nerven färbten; das nicht durch Schwefel verkettete, von Bindschedler beschriebene Indamin erwies sich als wirkungslos, wie auch die Glieder der Triphenylmethangruppe und andere Anilinfarbstoffe. Die Frage drängte sich dem Forscher auf: Warum färbt Methylenblau die Nerven? Bedingt seine ringförmige Struktur, bedingt sein charakteristisches Schwefelatom das einzig dastehende Färbevermögen? Und so weit war 1886 schon die Strukturerkenntnis bis über die engeren Fachkreise hinaus gedrungen, daß Ehrlich, in voller Beherrschung der theoretischen Farbstoffchemie, die Mithilfe der Technik zur Beantwortung seiner Frage anrufen konnte. Er schrieb ihr vor, das Sauerstoffanalogon des Methylenblaus — nach heutigem Sprachgebrauch, das entsprechende Oxazin — in analoger Weise wie das zur selben Zeit enträtselte Toluylenrot, aus Nitrosodimethylanilin und Metaoxydimethylanilin zu erzeugen. Zur Darstellung dieses noch unbekannten Ausgangsmaterials weise das kurz vorher von Groll aus Dimethylanilin nach Hübner-Frerichs-Nöltingscher Nitrierungsmethode erhaltene Metaaminodimethylanilin den Weg. Danach müsse man nach Grießscher Methode zu dem gesuchten Oxyderivat gelangen können.

Der Versuch wird gemacht, und einmal im Besitz des resorcinanalogen alkylierten Metaaminophenols, entdeckt die Technik sofort sein eosinähnliches Phtalein: das herrliche, lichtbeständige Rhodamin, das basische Gegenstück des sauerstoffverketteten Fluoreszeins.

Dann folgt der Ausbau der Rhodamingruppe und ihrer Verwandten, die Entdeckung der industriellen Methoden zur Darstellung der Metaaminophenole, später das Nilblau und eine Reihe anderer Oxazine.

Eine denkwürdige Wechselwirkung von Praxis und Theorie."

Die Kenntnisse, die der Biologe Ehrlich auf dem Gebiete der Farbstoffchemie besitzt, sind in der Tat außerordentliche; Konstitution und

Synthese der natürlichen und künstlichen färbenden Stoffe, die wissenschaftliche und die ungeheuer reichhaltige Patentliteratur beherrscht er gleich dem routiniertesten Spezialisten. Diesem Umstande ist es auch in erster Linie zu danken, daß Ehrlich seine ganze Chemotherapie gerade auf das Verhalten der — dem tierischen Organismus künstlich einverleibten — Farbstoffe aufbauen konnte. Seinem Grundsatze: „corpora non agunt nisi fixata" entsprechend untersuchte er zunächst, welche Farbstoffe überhaupt von bestimmten Zellen fixiert würden, d. h. welche Atomgruppierungen ein Farbstoff enthalten müsse, um bestimmte Gewebe anzufärben, sich also mit ihnen chemisch zu vereinigen; so fand er, wie wir oben gesehen haben, daß das Methylenblau besonders stark die lebenden Nervenfasern anfärbt, neurotrop ist; andere Farbstoffe speichern sich im Fettgewebe auf, sie sind lipotrop, wieder andere haben besondere Affinität zu bestimmten Parasiten, sie sind parasitotrop und kommen daher u. U. für die Therapie der durch die betreffenden Kleinlebewesen erzeugten Infektionskrankheiten in Betracht.

Diese — nebenbei auch zum Zwecke des Ausbaues seiner „farbenanalytischen Methodik", seiner „Chemie der Elektivfärbungen" angestellten Versuche, zeigten ihm, auf welche bestimmten Gruppierungen es zur Erreichung eines therapeutischen Effektes ankomme, welche Gruppen günstig, welche ungünstig, welche überhaupt nicht wirkten und er übertrug dann schließlich die gewonnenen Resultate auf nicht färbende Substanzen, die ebenfalls die betreffenden als günstig erkannten Atomgruppen enthielten. —

Wenn nach dem Gesagten also die Farbstoffe in erster Linie nur eine Art Aufklärungsdienst zu übernehmen hatten, d. h. nur Mittel zum Zweck der Auffindung therapeutisch wertvoller Gruppen waren, so fanden sich doch in der nach Tausenden zählenden Menge der geprüften Farbstoffe auch solche (eben die erwähnten parasitotropen), — die — sei es für sich allein — sei es in Kombination mit anderen Chemikalien (z. B. mit gewissen Arsenverbindungen) eine Heilwirkung auslösen. Wir können hier hinweisen auf die von Ehrlich beobachtete spezifische Wirkung des Methylenblaus auf die Erzeuger bestimmter Formen der Malaria[1]); auf das auf Ehrlichs Anregung von A. v. Weinberg und Karl Ullmann dargestellte Trypanrot, einen Tetrazofarbstoff (aus Benzidinmonosulfosäure und β-Naphtylamindisulfosäure R), der ebenso wie die Tryparosane (halogenierte Rosanilinfarbstoffe) und das Trypaflavin (Ehrlich und L. Benda

[1]) Berl. klin. Wochenschr., H. 39, **1891** [*179*].

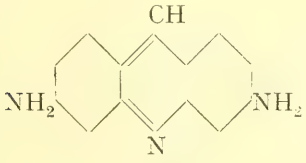
(l. c. [26])) eine mächtige trypanosomentötende Kraft besitzt (vgl. Ehrlich und Shiga[2]), Franke[3])).

Von den Gesetzmäßigkeiten, die durch diese Farbstoffstudien aufgedeckt wurden, verdienen besondere Erwähnung der ungünstige (dystherapeutische) Einfluß, den manche Gruppen (wie die Methyl- und die Nitro-), der abschwächende, den die Sulfo- und die Karboxylgruppe, der günstige, eutherapeutische, den das Chlor u. a. m. in bestimmten Fällen ausüben.

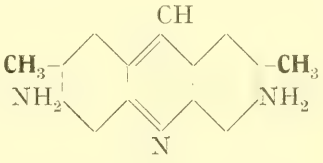
So nimmt der therapeutische Wert der Rosanilinfarbstoffe zu mit abnehmender Zahl der Methylgruppen und erreicht ein Maximum, wenn in das — methylfreie — Pararosanilin noch Chlor eingeführt wird (P. Ehrlich und L. Benda).

| Krystallviolett | → Rosanilin | → Pararosanilin | → Chloriertes Pararosanilin |
|---|---|---|---|
| (Hexamethyl) | | | (Tryparosan) |
| schlecht | gut | besser | am besten; |

und ebenso ist der therapeutische Effekt des Trypaflavins (I) dreimal so groß, wie der des Akridiniumgelbs (II), das 2 Methylgruppen mehr enthält:




I




II

Und diese bei den Farbstoffen gemachten Beobachtungen bestätigten sich bei der Untersuchung farbloser Verbindungen: die von L. Benda und R. Kahn hergestellten homologen Atoxyle (Arsanilsäure) sind schlechter als das Atoxyl selbst, die von A. Bertheim dargestellten methylierten Dioxydiaminoarsenobenzole sind weniger gut als das methylfreie Dioxydiaminoarsenobenzol (das Salvarsan). Natürlich sind auch bisweilen Ausnahmen gefunden worden: so hat Reid Hunt[4]) in Ehrlichs Laboratorium festgestellt, daß die Homologen des Phenylaminoacetonitrils weniger giftig als dieses selbst sind.

Die therapeutische Verwendbarkeit einer chemischen Substanz ist

[2]) Berl. klin. Wochenschr., H. 13/14, **1904** [*211*].
[3]) I.-D. Gießen **1905** [*349*]; Münch. med. Wochenschr., H. 42, **1905** [*348*].
[4]) Arch. internat. de Pharmacodynamie et de therapie, **XII**, 447, **1904** [*376*].

im allgemeinen proportional ihrer bakteriziden (parasitotropen) Kraft und umgekehrt proportional ihrer Organotropie, ihrer Affinität zu den Zellen des Organismus, den sie von den ihn krank machenden Parasiten befreien soll. — Nun gibt es leider keine Chemikalien, die, wie die vom Organismus selbst erzeugten, in der Serumtherapie verwendeten Schutzstoffe und Gegengifte nur parasitotrop sind, ohne gleichzeitig auch den Organismus selbst zu tangieren, die also nach Ehrlichs treffendem Vergleich wie Zauberkugeln nur auf den körperfremden Schädling gerichtet sind.

In Fällen, wo die Serumtherapie aus irgendeinem Grunde uns im Stiche läßt, wie bei manchen durch Protozoen verursachten Erkrankungen (Malaria, Schlafkrankheit, Syphilis, Framboesie, Rekurrens), wo wir somit auf chemische Mittel, auf die Chemotherapie angewiesen sind, müssen wir uns daher zu einem Kompromiß verstehen. Die Aufgabe des Chemotherapeuten besteht, wie Ehrlich[5] [6] [7] sich etwa ausdrückt, darin, chemisch zielen zu lernen, d. h. solche chemischen Stoffe ausfindig zu machen, bzw. herzustellen, die — soweit dies eben überhaupt möglich ist, nur den Parasiten „treffen", ohne den Wirt, den kranken Organismus, wesentlich zu schädigen. —

Es muß also für jede Substanz die Giftigkeit sowohl als auch die zur Heilung erforderliche Menge bestimmt werden, und das Verhältnis von Dosis curativa zu Dosis tolerata c/t gibt uns ein Bild von dem therapeutischen Effekt einer Substanz gegenüber einer bestimmten Infektionskrankheit bei einer bestimmten Tierspezies. —

Die Schwierigkeit dieser chemotherapeutischen Untersuchungen wird aber weiterhin erhöht durch den Umstand, daß die bakterizide Kraft nicht einfach im Reagenzglas bestimmt werden kann; die Versuche in vitro beweisen an sich oft recht wenig. So hat Ehrlich gezeigt, daß gewisse Arsinsäuren die Trypanosomen rasch abtöten, wenn sie dem lebenden infizierten Tierkörper einverleibt werden, daß sie dagegen im Reagenzglas kaum einwirken. Er bewies, daß das entsprechende Arsenikale zunächst durch den Organismus in bestimmter Richtung verändert (reduziert) werden müsse, um überhaupt trypanozid zu werden. — Nun besitzen aber die Organismen der verschiedenen Tierspezies (ja selbst die verschiedenen Individuen ein und derselben Tierspezies) ein verschieden starkes Reduktionsvermögen, manche reduzieren ein be-

[5] Berl. klin. Wochenschr., H. 9/12, **1907** [*93*].
[6] Ber. d. deutsch. Chem.-Ges., **XLII**, 17, **1909** [*108*].
[7] Zeitschr. f. angewandte Chemie, **XXIII**, 2, **1910** [*112*].

stimmtes, eingeführtes Quantum vollständig, manche nur einen kleinen Bruchteil, so daß mehr oder weniger große Mengen wirkungslos bleiben und unverändert wieder ausgeschieden werden. Um diese Fehlerquelle auszuschalten und gleichzeitig dem Organismus die Arbeit des Reduzierens abzunehmen, führte Ehrlich die letztere im Laboratorium aus und stellte dem Organismus die Reduktionsprodukte der Arsinsäuren, die Arsenoxyde und die Arsenoverbindungen zur Verfügung. Es erwies sich, daß dieselben gegenüber dem nicht reduzierten Ausgangsmaterial eine ungeheure (in manchen Fällen hunderttausendfache) Steigerung der trypanoziden Kraft besitzen, ohne daß ihre Giftigkeit auch nur annähernd entsprechend gestiegen wäre. Der Quotient c/t ist also erheblich verbessert, d. h. verkleinert worden. Die Synthese des Salvarsans ist aus diesen Untersuchungen hervorgegangen.

Ein anderes wertvolles Resultat wurde aus der von Ehrlich entdeckten „spezifischen Arzneifestigkeit" (Arsenfestigkeit, Fuchsinfestigkeit, Trypanrotfestigkeit) gezeitigt: die Kombinationstherapie, die gleichzeitige Einwirkung grundsätzlich verschiedener Heilmittel, eine Therapie, die bezweckt, den Krankheitserreger quasi von verschiedenen Seiten zu packen, seine verschiedenen Chemozeptoren zu verankern, war eine Frucht dieser Arbeiten, die in dem Abschnitte über Chemotherapie eingehend gewürdigt werden sollen. Hier müssen wir uns auf diese Andeutungen beschränken.

Im folgenden wollen wir nun zunächst über die rein chemischen Abhandlungen, die von Ehrlich und seinen Mitarbeitern veröffentlicht worden sind und über diejenigen, die seiner Anregung direkt oder indirekt ihre Entstehung verdanken, berichten. Das so wichtige Gebiet der aromatischen Arsenverbindungen haben wir davon abgetrennt, da es gewissermaßen für sich ein abgeschlossenes Ganzes bildet. — Es wird im darauffolgenden Abschnitt dieses Kapitels von A. Bertheim, dem langjährigen Mitarbeiter Ehrlichs, behandelt werden.

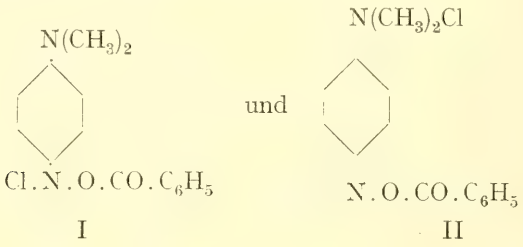
In ihrer Abhandlung, betitelt: „Die Einwirkung von Säurechloriden auf Nitrosodimethylanilin", beschreiben Ehrlich und Georg Cohn[8]) die von ihnen aufgefundene Reaktion zwischen Nitrosoverbindungen, wie Nitrosodimethylanilin, Nitrosotetramethyl-metaphenylendiamin, Nitrosodiäthyl-meta-aminophenol auf Säurechloride, z. B. Acetylchlorid, Benzoylchlorid, Benzolsulfochlorid, m-Nitrobenzolsulfochlorid, Chlorkohlenoxyd, Chlorkohlensäureäther usw.

[8]) Ber. d. deutsch. Chem.-Ges., **XXVI**, 1756, **1893** [*173*].

Die Reaktion verläuft — in manchen Fällen fast quantitativ — in der Richtung, daß 1 Mol des Säurechlorids sich mit 1 Mol der Nitrosoverbindung vereinigt; die Annahme, daß ein bloßes Additionsprodukt vorliege, wird durch die Eigenschaften der entstehenden Verbindungen ausgeschlossen.

Der aus Nitrosodimethylanilin und Benzoylchlorid erhaltene Körper besitzt eine eminente Fähigkeit, sich mit Basen und Phenolen zu kondensieren; in dieser Richtung übertrifft er alle von den beiden Forschern untersuchten ähnlichen Verbindungen, insbesondere auch das Nitrosodimethylanilin selbst und die als sehr reaktionsfähig bekannten Chinonchlorimide beträchtlich. Während sich z. B. salzsaures Nitrosodimethylanilin nur allmählich progressiv mit m-Toluylendiamin zu Toluylenblau verbindet, erfolgt mit der neuen, aus Benzoylchlorid und Nitrosodimethylanilin hergestellten Verbindung die Farbbildung schon in der Kälte sofort und mit einem Schlage und zwar mit gleicher Energie in wässeriger, wie in alkoholischer Lösung. — Der Versuch ist zum Vorlesungsexperiment sehr geeignet.

In ähnlicher Weise wie mit Toluylendiamin erhält man auch mit einer Reihe anderer Amine, wie Dimethylanilin, $\alpha$- und $\beta$-Naphtylamin, Tetrahydro-$\alpha$-Naphtylamin, sowie Phenolen (Phenol, Resorcin, Orcin, Pyrogallol, Phloroglucin, Dimethylamidophenol, $\alpha$- und $\beta$-Naphtol, o-Oxychinolin usw.) die entsprechenden Indamine und Indophenole. Was die Konstitution der Verbindung anbelangt, so ziehen die Forscher zwei Formeln in Betracht, nämlich

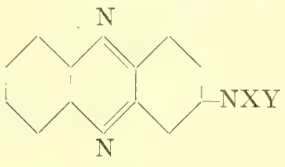



I II

Für Formel I, nach der die Substanz als Benzoylester des p-Dimethylamidobenzolchlorhydroxylamins erscheint, spricht die außerordentliche Reaktionsfähigkeit, während die Formel II mehr den modernen Anschauungen über die Konstitution der Nitrosoverbindungen entspricht. Mit letzterer Zusammensetzung steht ferner der Umstand, daß der Körper einen ausgesprochen bitteren Geschmack besitzt, in besserer Übereinstimmung. — Eine Entscheidung zugunsten der einen oder der anderen Formel treffen die Autoren nicht.

Man wird aber heute wohl der chinoiden Formel (II) den Vorzug geben.

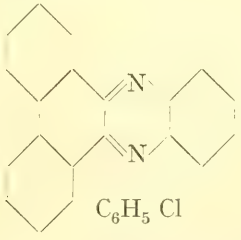
Wie Kehrmann (vgl. z. B. Chem. B. XXIX, 2317 [1896]) gefunden hat, werden Azoniumbasen von Ammoniak, primären und sekundären Aminen der aliphatischen und aromatischen Reihe unter Mitwirkung des Luftsauerstoffs in para-Stellung zum Azinstickstoff substituiert. Es entstehen dabei Verbindungen vom Typus




R Cl

Ehrlich hat nun bei seinen Untersuchungen, die die histologische und mikrochemische Verwertung der Kehrmannschen Reaktion bezweckten, eine Färbung erhalten, die sich nicht auf einen Aminorest zurückführen ließ, sondern auf eine Reaktion einer Methylengruppe hinwies. Auf seine Anregung hat Franz Sachs[9]) diese Reaktion studiert und die Untersuchung: „Über das Kondensationsprodukt aus Flavindulin und Desoxybenzoin als Vertreter einer neuen Farbstoffklasse" hat ergeben, daß Azoniumbasen auch mit Verbindungen, die freie oder substituierte Methylengruppen enthalten (wie z. B. Acetessigester, Cyanessigester, Malonester, Malonitril, Acetylaceton, Benzoylcyanid, Desoxybenzoin, sonderbarerweise auch Resorcin leicht reagieren und daß dabei schöne Farbreaktionen auftreten, ähnlich denen, die Möhlau (Chem. Ber. XXXI, 2351 [1898]) und Liebermann (Chem. Ber. XXXI, 2903 [1898]) in der Reihe der Chinone und Indone beobachtet haben.

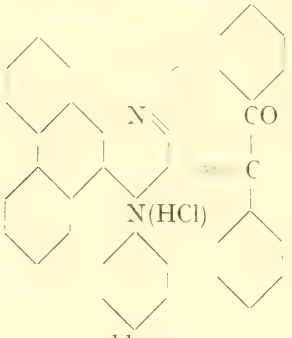
Als Typus der Azoniumbasen hat F. Sachs hauptsächlich das Flavindulin



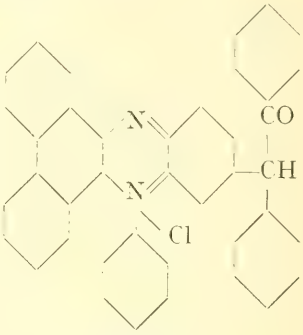

$C_6H_5$ Cl

[9]) Ber. d. deutsch. Chem.-Ges., **XXXI**, 3073, **1898** [*534*].

benutzt. Aus diesem Körper und dem Desoxybenzoin hat er eine Base erhalten, die, in Alkohol gelöst und mit Salzsäure versetzt, ein intensiv blau gefärbtes Salz liefert, das aber beim Erwärmen der Flüssigkeit oder beim Stehen orangerot wird. Der verschiedene Farbcharakter der beiden Salze spricht dafür, daß zwei verschiedene chromophore Konfigurationen vorhanden sein können, die dem ortho- und para-Chinontypus entsprechen dürften. Danach kommt dem blauen (labilen) Salz die Formel I, dem orange gefärbten Formel II (Flavindulintypus) zu:



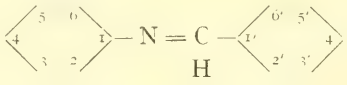

blau
I




orange
II

Verwendet man an Stelle von Desoxybenzoin andere Methylenverbindungen, so bilden sich, wie später F. Sachs und G. Bargellini (Chem. Ber. XXXVIII, 1742 [1905]) fanden, stets sofort die stabilen, orangeroten Salze.

P. Ehrlich und F. Sachs[10] [11]) haben dann „Die Kondensation von aromatischen Nitrosoverbindungen mit Methylenderivaten" studiert. Es entstehen Azomethine (Möhlau nennt das Chromophor .CH:N. Azomethin), deren einfachste Form, das Benzylidenanilin, die Autoren als Phenylazomethinphenyl bezeichnen und im Sinne der untenstehenden Formel beziffern:



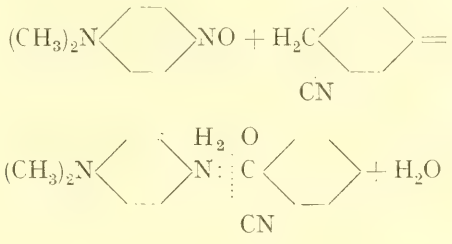

($\mu$)

(cf. E. Fischer, Chem. Ber. XXIX, 794 [1896]).

Die Kondensation (in alkohol. Lösung mit oder ohne Alkali — in

[10]) Ber. d. deutsch. Chem.-Ges., **XXXII**, 2341, **1899** [*202*].
[11]) Ebenda, **XXXIII**, 959, **1900** [*203*].

manchen Fällen genügt ein Tropfen Piperidin —) findet also zwischen der NO- und der $CH_2$-Gruppe statt, und zwar mit außerordentlicher Leichtigkeit. — So wurde beispielsweise aus Nitrosodimethylanilin und Benzylcyanid die Verbindung I erhalten:



(I)

die sich durch Mineralsäuren — im Sinne der punktierten Linie glatt in Dimethyl-p-Phenylendiamin und Benzoylcyanid spalten läßt.

Die Vereinigung der Nitroso- mit den Methylenverbindungen gelingt besonders leicht bei Verwendung von „sauren" Methylenkörpern und da auch die Spaltung meist quantitativ verläuft, so ist hier ein Weg zur Herstellung von Ketonen aus den entsprechenden Methylenderivaten gezeigt.

Besonders eingehend haben die Verfasser die Derivate des Benzylcyanids untersucht; seine Kondensationsprodukte zeichnen sich durch große Kristallisationsfähigkeit aus, die namentlich bei den Derivaten des Diäthylanilins hervortritt; diese sind auch am intensivsten gefärbt. Während die Kondensationsprodukte aus Nitrosodimethylanilin nur gelb bis braun sind, zeigen die Diäthylderivate orange bis violettrosa Färbung; sie färben z. T. Wolle und Seide direkt.

Wie Benzylcyanid und dessen Substitutionsprodukte reagieren auch u. a. Acetessigester, Malonitril, Cyanessigester, Cyanacetamid, Phenylacetamid, Phenylessigester, Phenylacetaldehyd; ferner einige Derivate des Diphenylmethans, das Tetramethyldiaminodiphenylmethan, das Diaminodiphenylmethansulfon und dessen Tetramethylderivat.

Die zuletzt genannten Kondensationsprodukte gehören zu den Auraminen; sie sind amidierte Phenylauramine; das Tetramethyldiaminodiphenylmethansulfonderivat gibt bei der Spaltung leicht ein schwer lösliches, gelb gefärbtes Keton. —

Die Reaktion zwischen Nitrosokörpern und „sauren" Methylenverbindungen, die nach dem oben Gesagten allgemein so zu formulieren ist: $(Alkyl)_2N.C_6H_4NO + R_1CH_2R_2 = (Alkyl)_2N.C_6H_4N{:}C(R_1R_2) + H_2O$,

wobei $R_1$ und $R_2$ verschiedene oder gleiche negative Radikale bedeuten, wurde von F. Sachs weiter untersucht.

Sie ist gewissermaßen eine Umkehrung derjenigen, welche Hans Vogtherr (Chem. Ber. XXV, 635 [1892], vgl. Möhlau Chem. Ber. XXXI, 2250 [1898]) beschrieben hat.

Dieser stellt nämlich gleich konstituierte Verbindungen durch Einwirkung von Dimethyl-p-phenylendiamin auf Ketone dar.

$$(Alkyl)_2N.C_6H_4NH_2 + R.CO.R = (Alkyl)_2N.C_6H_4.N{:}C(RR) + H_2O.$$

Am besten — schon ohne Kondensationsmittel reagieren stark saure Methylenverbindungen (Malonitril, p-Nitrobenzylcyanid) mit den Nitrosokörpern. —

Benzylcyanid, Cyanessigester, Cyanacetamid, Acetylaceton dagegen werden in Gegenwart alkalisch reagierender Salze (Soda oder Trinatriumphosphat) kondensiert, andere, wie Malonsäureester, verlangen einen Zusatz von Cyankalium, das stärker wirkt als die beiden genannten Salze; eine vierte Gruppe (bestimmte Derivate des Diphenylmethans, Tetramethyldiaminodiphenylmethansulfon) kondensiert nur bei Gegenwart von freiem Alkali und schließlich gibt es noch zwei Klassen, von denen die eine, die fünfte, erst mittels Alkoholats oder in der Form der Natriumsalze, die sechste aber auch unter diesen Bedingungen nicht zur Reaktion gebracht werden kann.

Diese Beobachtungen sind ein neuer Beweis für die von Henrich (Chem. Ber. XXXI, 2103 [1898]) aufgestellte Theorie der negativen Natur ungesättigter Atomgruppen. Malonitril mit seinen beiden dreifachen Bindungen reagiert besonders gut.

Auch auf den Farbstoffcharakter hat die Cyangruppe einen erheblichen Einfluß: Das Kondensationsprodukt mit Acetessigester färbt Wolle und Seide fast gar nicht an, dasjenige mit Cyanacetamid gibt lachsrote, das mit Malonitril rosa bis violettrosa Färbungen (vgl. hierzu P. Ehrlich und L. Benda[12]):

Die Azomethine geben salzartige, unbeständige Verbindungen, wenn man in ihre Benzol- oder Chloroformlösung Salzsäuregas einleitet. Diese werden beim Kochen mit Hydroxylaminchlorhydrat im Sinne der punktierten Linie zerlegt

$$(Alkyl)_2N\cdot C_6H_4\cdot N = C\cdot(R_1)(R_2)$$
$$\qquad\qquad\quad HCl \quad H_2O \quad NOH$$

es bildet sich also Amin, sowie das Oxim des bei der Säurespaltung (s. o.) entstehenden Ketons.

[12]) Ber. d. deutsch. Chem.-Ges., **XLVI**, 1931, **1913** [*161*].

Mit dem gleichen Erfolge, den Ehrlich und F. Sachs bei der Kondensation von Methylenderivaten mit den Nitrosoverbindungen tertiärer Amine erzielt hatten, kondensierten F. Sachs und E. Bry (Chem. Ber. XXXIV, 118 [1901]) die sekundären Verbindungen.

In derselben Abhandlung beschreiben sie ferner die verschiedenen Spaltungsprodukte, die aus den tertiären Azomethinen unter der Einwirkung von Hydrazin, Phenylhydrazin und Aminen entstehen.

In einer Abhandlung, betitelt: „Die Darstellung von Anilen der Säurecyanide" (Chem. Ber. XXXIV, 494 [1901]) teilt F. Sachs mit, daß auch Nitrosobenzol (statt Nitrosodimethylanilin) mit Methylenverbindungen reagiert. Man erhält dann Produkte mit nicht substituiertem Anilrest: $R.C(CN):N.R_1$. — Die Arbeit, die noch weitere interessante Beobachtungen enthält, ist im Original nachzulesen. —

Die von Ehrlich und F. Sachs gefundene Methode der Überführung einer $CH_2$-Verbindung in das entsprechende Keton wurde von F. Sachs und H. Barschall mit Erfolg (Chem. Ber. XXXIV, 3047 [1901]) benützt, um das bisher unbekannte einfachste 1.2.3-Triketon der aliphatischen Reihe $CH_3.CO.CO.CO.CH_3$ das Triketopentan, aus Acetylaceton $CH_3.CO.CH_2.CO.CH_3$ darzustellen. —

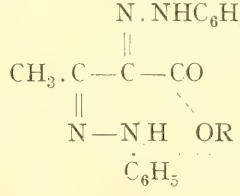
Die neue Verbindung hat sich als eines der stärksten Reduktionsmittel der organischen Chemie erwiesen. —

Interessant ist, daß nur zwei von den drei CO-Gruppen mit Aminen reagieren; ebenso erhält man mit o-Phenylendiamin ein Azin, das noch eine freie Ketogruppe enthält. —

Kondensiert man an Stelle von Acetylaceton Acetessigester oder Benzoylessigester mit Nitrosoverbindungen und spaltet dann mit Säuren, so erhält man $\alpha$-, $\beta$-Diketomonokarbonsäureester, die einer gleichfalls noch nicht bekannten Körperklasse angehören:

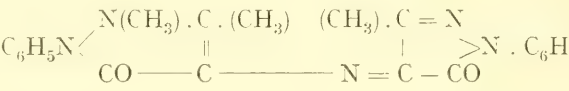
$$CH_3.CO.CO.COOR, \text{ resp. } C_6H_5.CO.CO.COOR.$$

Durch Einwirkung von Phenylhydrazin auf dieselben erhielten die genannten Forscher die gleichen Pyrazolonderivate, die schon auf anderen Wegen, z. B. aus Benzol-azoacetessigester und Phenylhydrazin oder aus Phenylmethylpyrazolon und Diazobenzol hergestellt worden sind:



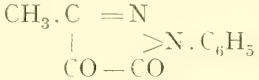
Auch durch Kondensation von Nitrosodimethylanilin mit Phenylmethylpyrazolon und Spaltung in der Kälte haben Sachs und Barschall (Chem. Ber. XXXV, 1437, [1902] ein bereits von Pschorr und Knorr (R. Pschorr, Inaug.-Diss. Jena 1894) beschriebenes Ketopyrazolon, das 1-Phenyl-3-methyl-4-Ketopyrazolon (5) erhalten. (Auf analogem Wege stellten später F. Sachs und P. Becherescu (Chem. Ber. XXXVI, 1132 [1903] aus Diphenylpyrazolon und Nitrosodimethylanilin und nachherige Spaltung das 1.3-Diphenyl-4-Ketopyrazolon (5) dar.)

Die gleiche Verbindung — das Phenylmethylketopyrazolon erhielt Fr. Pröscher[13]) in Ehrlichs Laboratorium, indem er Phenylmethylpyrazolon mit Nitrosoantipyrin kondensierte. Er bekam auf diesem Wege die Methylrubazonsäure



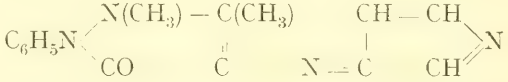
die Pschorr (l. c.) aus Amidoantipyrin und der Bisulfitverbindung des Phenylmethylketopyrazolons hergestellt hatte. Sie ist als Methylderivat der Rubazonsäure (Knorr, Ann. 238, 192) interessant, welch letztere nach Einnahme von Pyramidon im Harn auftritt (Jaffé, Chem. Ber. XXXIV, 2737 [1901]).

Kocht man nun die Methylrubazonsäure mit verdünnter Schwefelsäure, so wird sie in Aminophenyldimethylpyrazolon (Amidoantipyrin) und das von Knorr und Pschorr entdeckte Phenylmethylketopyrazolon:



gespalten.

Pröscher erwähnt, daß das Nitrosoantipyrin auch sonst leicht zur Erzeugung von Indaminfarbstoffen verwendet werden kann. So vereinigt es sich leicht mit Pyrrol zu einem Farbstoff, dem wohl die Konstitution



zukommen dürfte. Mit Toluylendiamin liefert es glatt einen roten Farbstoff.

[13]) Ber. d. deutsch. Chem.-Ges., **XXXV**, 1436, **1902** [*506*].

Franz Sachs und Alfred Röhmer: Über Triketone (Chem. Ber. XXXV, 3307 [1902]) haben nach der von F. Sachs und Barschall angegebenen Methode (s. o.) auch das gemischt aromatisch-aliphatische Triketon: Methylphenyltriketon aus Benzoylaceton und Nitrosodimethylanilin dargestellt. Zunächst entsteht das Dimethylamidoanil des Methylphenyltriketons, welches mit Mineralsäuren in der bereits beschriebenen Richtung gespalten wird. Das neue Keton, das auch als Phenyltriketobutan zu bezeichnen ist, unterscheidet sich in chemischer Richtung von der Dimethylverbindung, dem früher beschriebenen Triketopentan (Pentantrion) $CH_3.CO.CO.CO.CH_3$ (s. o.) vor allem dadurch, daß von seinen drei Ketogruppen in der Kälte nur eine mit Aminoverbindungen reagiert (Ausnahme o-Phenylendiamin; hier reagieren zwei, und zwar die dem aromatischen Kern benachbarten Ketogruppen), während bei dem rein aliphatischen Pentantrion immer zwei Ketogruppen in Reaktion treten.

Zusammen mit W. Wolff (Chem. Ber. XXXIV, 3047 [1911]) hat F. Sachs weitere Untersuchungen über Triketone veröffentlicht, und mit V. Herold (Chem. Ber. XL, 2714 [1901]) einige Derivate des Phenyltriketobutans (s. o.), z. B. das o-Methoxy- und das o, p-Dimethoxyphenyltriketobutan beschrieben.

Gemeinschaftlich mit R. Kempf hat der gleiche Forscher (Chem. Ber. XXXV, 1224 [1912]) die Reaktion, die es gestattet, die „saure" Methylengruppe in eine „Keto"gruppe zu verwandeln, auch auf die Methylgruppe übertragen und auf diese Weise Aldehyde hergestellt. (Die ersten Versuche in dieser Richtung wurden zusammen mit Witthaker ausgeführt.) Versuche, o- und p-Nitrotoluol mit Nitrosodimethylanilin zu kondensieren, ergaben kein Resultat, dagegen gelang es 2.4-Dinitrotoluol in den 2.4-Dinitrobenzaldehyd und 2. 4. 6-Trinitrotuluol in 2. 4. 6-Trinitrobenzaldehyd überzuführen. Zusammen mit W. Everding (Chem. Ber. XXXVI, 959 [1903]) hat F. Sachs den letzteren Aldehyd weiterhin studiert.

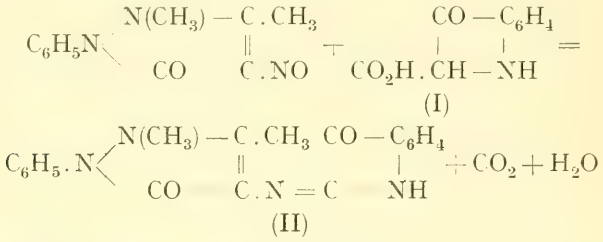
---

Nachdem durch die Arbeiten von L. Wolff (Ann. 325, 191 [1902]) die 4-Nitrosopyrazole leicht zugänglich geworden sind, haben F. Sachs und P. Alsleben (Chem. Ber. XL, 664 [1907]) das Verhalten dieser Körper gegenüber reaktionsfähigen Methylen- und Methylverbindungen, wie Nitrobenzylcyanid, Dinitrotoluol geprüft und u. a. festgestellt, daß die entstehenden Kondensationsprodukte den aus Nitrosodimethylanilin erhaltenen ähnlich sind. Aus 3.5-Dimethyl-4-Nitrosopyrazol und p-Nitrobenzylcyanid bildete sich:

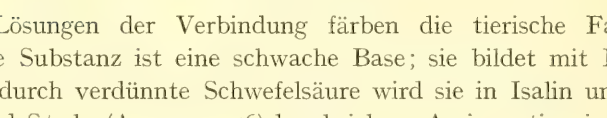
$$\begin{array}{l} CH_3.\underset{\substack{3\\2}}{C} \quad \text{—} \underset{\substack{4\\5}}{C}.N:C(CN).C_6H_4.NO_2 \\ \quad\;\; N.\overset{1}{N}H.C.CH_3 \end{array}$$

H. Bechhold[14]) hat die Indoxylsäure mit Nitrosoantipyrin kondensiert. Unter $CO_2$- und $H_2O$-Abspaltung bildet sich hierbei das $\alpha$-(1-Phenyl-2.3-dimethylpyrazolon (5)-yl-(4)-imid des Isatins (Formel II), ein Analogon zu dem von Geigy u. Co. in verschiedenen Patenten beschriebenen Isatin-$\alpha$-Anilid. —

Die Reaktion erklärt sich auf das Ungezwungenste bei folgender Formulierung der Indoxylsäure (Formel I)



(I)



(II)

Die Lösungen der Verbindung färben die tierische Faser schön braun; die Substanz ist eine schwache Base; sie bildet mit Pikrinsäure ein Salz; durch verdünnte Schwefelsäure wird sie in Isalin und das von Knorr und Stolz (Ann. 293, 56) beschriebene Aminoantipyrin zerlegt. —

F. Sachs und seine Mitarbeiter haben noch eine große Anzahl von Azomethinen aus den verschiedenartigsten Nitroso- und Methylenverbindungen hergestellt (erwähnt seien beispielsweise die von Warunis und Sachs (Chem. Ber. XXXVII, 2636 [1904]) gelegentlich ihrer Untersuchung über das $\omega$-Cyandimethylanilin gefundenen Azomethine aus Malonitril resp. p-Nitrobenzylcyanid einerseits und Methyl-p-Nitrosophenylglykokollamid $ON.C_6H_4N(CH_3).CH_2.CO.NH_2$ andererseits u. v. a.)

Den Einfluß verschiedener Substituenten in der $\mu$-Stellung auf die chromophore Wirkung der —C : N-Gruppe (deren chromophorer Charakter zuerst von H. Weil (Chem. Ber. XXVII, 3317 [1894]) erkannt, von Möhlau (Chem. Ber. XXXI, 2250 [1898]) eingehender verfolgt worden war) haben Franz Sachs und M. Goldmann (Chem. Ber. XXXV, 3319 [1902]) festgestellt: Cl, O, $NH_2$ drücken beim Eintritt in die $\mu$-Stellung die chromophore Wirkung der —C = N-Gruppe herab, CN und Sulfhydryl scheinen sie zu stärken.

So hat die von Ehrlich und Sachs (l. c. [7]) [8])) nachgewiesene, in

[14]) Ber. d. deutsch. Chem.-Ges., **XXXVI**, 4131, **1903** [*250*].

umfassendster und erfolgreichster Weise von F. Sachs und seinen Mitarbeitern an einer großen Reihe von Verbindungen untersuchte Kondensationsfähigkeit von aromatischen Nitrosobasen mit Methylenverbindungen manche neue Beobachtung gezeitigt und den Weg zu interessanten, bis dahin unzugänglichen Verbindungen gebahnt. —

Wir wenden uns nun zu einigen Arbeiten, die besonders für den physiologischen Chemiker von Interesse sind:

Gemeinschaftlich mit Alfred Einhorn[15]) hat Ehrlich R- und L-Cocainderivate mit Substituenten in der anästhesiophoren Benzoylgruppe dargestellt und ihre physiologische Wirkung geprüft. So wurden o-Chlor-, m-Nitro-, m-Amido-, m-Oxy-, L- und R-Cocaine hergestellt; dann auch in das R-m-Amidococain der Acetyl- und der Benzoylrest eingeführt, sowie durch Einwirkung von Chlorkohlensäureester auf das R- und L-Amidococain die Urethane (die auffallenderweise viel stärker anästhesierend wirken als die Cocaine) gewonnen. — Auch Azofarbstoffe aus diazotiertem Amidococain einerseits, Dimethylanilin und α-Naphtylamin andererseits wurden untersucht. Über die physiologischen Eigenschaften aller dieser Cocainderivate, ihre anästhesierende Funktion und ihre Wirkung auf die Leberzellen (Cocain selbst bewirkt sehr charakteristische, pathologisch-anatomische Veränderungen der Leber) wird in dem Abschnitt: „Physiologische Chemie" Näheres berichtet werden.

In einer Arbeit, betitelt: Über Acetophenonazobilirubin berichtet F. Pröscher[16]) über die aus Diazoverbindungen und Bilirubin entstehenden Farbstoffe. — Ehrlich[17]) zeigte 1883, daß diazotierte Sulfanilsäure mit Bilirubin kuppelt. Bemerkenswerterweise geht die Farbstoffbildung in stark saurer Lösung, ja selbst in konzentrierter Salzsäure vor sich. Mit Hilfe der Diazosulfanilsäure (Ehrlichsches Reagens) ist das Bilirubin noch in einer Verdünnung von 1:6000 nachweisbar (blaue bis blauviolette Färbung). Pröscher hat aus Diazoacetophenon und Bilirubin den entsprechenden Azofarbstoff in Substanz dargestellt und beschreibt dessen Eigenschaften; es ist ein Mono-Azofarbstoff; seine neutrale Lösung ist rot, die alkalische grün, die ammoniakalische violettrot, die salzsaure und die schwefelsaure blau gefärbt. — (Formanek hat die Verbindung spektralanalytisch untersucht.)

Pröscher hat dann weiterhin auch den Azofarbstoff aus Diazo-

[15]) Ber. d. deutsch. Chem.-Ges., **XXVII**, 1870, **1894** [*174*].
[16]) Zeitschr f. physiol. Chemie, **XXIX**, 411, **1900** [*504*].
[17]) Centralbl.. f. klin. Med., H. 45, **1883** [*24*].

sulfanilsäure und Bilirubin isoliert und ferner festgestellt, daß andere Gallenfarbstoffe wie Biliverdin und Bilihumin die Reaktion gar nicht, oder wie Bilifuscin und Bilifrasin nur in äußerst geringem Grade geben. —

Die von Ehrlich entdeckte, unter dem Namen „Diazoreaktion" bekannte Prüfung des Harns mittels Diazobenzolsulfosäure auf gewisse physiologische und pathologische Bestandteile wird in dem Abschnitt über physiologische Chemie eingehend gewürdigt werden.

Hier wollen wir zunächst einiges über die Dimethylamidobenzaldehyd-Reaktion sagen. In einer darauf bezüglichen Arbeit bespricht Ehrlich[18]) den Gedankengang, der ihn zur Prüfung normaler und pathologischer Harne misttels Diazobenzolsulfosäure und p-Dimethylaminobenzaldehyds geführt hat. (Näheres darüber s. in dem Abschnitt über physiologische Chemie). Während normaler Harn sich in saurer Lösung mit dem genannten Aldehyd schwach rot färbt, geben Harne von Typhuskranken und von Phthisikern eine besonders starke kirschrote Färbung. Auf Veranlassung Ehrlichs hat Pröscher[19]) solche Harne benutzt, um das Dimethylaminobenzaldehyd-Kondensationsprodukt daraus zu isolieren.

Im Laufe seiner weiteren Untersuchungen fand Ehrlich, daß gewisse Gewebsarten mit Dimethylaminobenzaldehyd eine schöne rote bis rotviolette Färbung geben. Legt man einen Knorpelschnitt in die Lösung dieses Reagenzes, so wird das Perichondrium intensiv rotviolett gefärbt, während Knorpelgewebe und das umgebende Binde- und Fettgewebe farblos bleiben. (Härtet man die Gewebe mit Formaldehyd, so bleibt die Reaktion aus, weil die betr. Atomgruppe durch den Formaldehyd bereits gebunden ist; aus demselben Grunde gibt auch der Harn keine Reaktion mit Dimethylaminobenzaldehyd, wenn man ihm vorher etwas Formaldehyd zugesetzt hat.)

Ehrlich glaubt, daß die Reaktion nicht auf eine Amidogruppe, sondern auf eine Methylengruppe zurückzuführen ist, die in der Nachbarschaft acidificierender Reste liegt; denn, wie er gefunden hat, reagiert Dimethylaminobenzaldehyd mit derartigen Methylenverbindungen unter Bildung rotvioletter Färbungen, während die Farbstoffe, die durch Kondensation mit Aminoverbindungen entstehen, mehr gelborange Färbung zeigen. (Es hat sich später gezeigt, daß die „Urinprobe" eine Reaktion auf Urobilinogen, und daß sie auf den darin enthaltenen Pyrrolkern zurückzuführen ist.)

[18]) Med. Woche, Nr. 15, **1901** [*73*].
[19]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, **XXXI**, 520, **1901** [*505*].

Franz Sachs und seine Mitarbeiter haben dann den p-Dimethylaminobenzaldehyd und dessen Derivate in chemischer Richtung eingehend studiert (s. z. B. Franz Sachs und Willy Lewin, Chem. Ber. XXXV, 3569 [1912], Franz Sachs und Paul Steiner, Chem. Ber. XXXVII, 1733 [1904], Franz Sachs und Ludw. Sachs, Chem. Ber. XXXVIII, 511, 517 [1905]; Franz Sachs und Franz Michaelis, Chem. Ber. XXXIX, 2163 [1906], Franz Sachs und W. Weigert, Chem. Ber. XL, 4354 [1907], Franz Sachs und Ernst Appenzeller, Chem. Ber. XLI, 91 [1908]; Tetramethyl-2.4-diaminobenzaldehyd).

Da nach den Anschauungen Ehrlichs über den Zusammenhang zwischen Konstitution und Verteilung im Organismus Farbstoffe mit stark wirkenden toxischen Gruppen besonderes Interesse in physiologischer Hinsicht haben, hat W. Walter[20]) auf Veranlassung Ehrlichs einige Farbstoffe, die sich vom Malonitril ableiten, durch Kondensation dieser Verbindung mit dem p-Dimethylaminobenzaldehyd, dem Resorcinaldhyd und dem Isatin dargestellt. Sämtliche Körper zeichnen sich durch schöne Färbung aus. Über ihre biologischen Eigenschaften wird an anderer Stelle dieses Buches berichtet werden. —

In diesem Zusammenhang mögen auch die cyanhaltigen Azofarbstoffe erwähnt werden, die Ehrlich und L. Benda z. B. aus diazotiertem p-Aminobenzylcyanid und den verschiedenartigsten Azofarbstoffkomponenten dargestellt haben. Auch eine Reihe von Arsinsäure- und Cyanderivaten von Azo-, Akridin-, Azin- und Triphenylmethanfarbstoffen haben Ehrlich und L. Benda, immer in der Absicht toxische Gruppen einzuführen, hergestellt (noch nicht publiziert). —

An dieser Stelle sei ferner auf die im Ehrlichschen Institut ausgeführte Arbeit von Reid Hunt (Zur Kenntnis der Toxikologie einiger Nitrile und deren Antidote) hingewiesen (l. c. [4]).

---

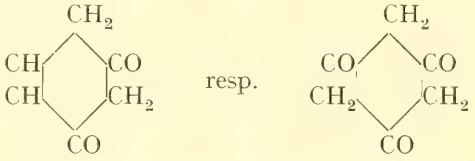
Bei Versuchen über den Nachweis von Alkaloiden und ähnlichen Substanzen, sowie über Entgiftung toxischer Substanzen durch Synthese innerhalb des lebenden Organismus haben Ehrlich und C. A. Herter[21]) die Reaktionsfähigkeit der von Witt (Chem. Ber. XXIV, 3163 [1891]) dargestellten 1,2-Naphtochinon-4-sulfosäure untersucht. Diese Säure reagiert nicht nur mit Anilin, sondern mit allen aromatischen Mono- und Diaminen, außer wenn mehrere stark negative Gruppen (Trinitranilin, Tribromanilin) vorhanden sind. Monamine geben orange Niederschläge,

[20]) Ber. d. deutsch. Chem.-Ges., **XXXV**, 1320, **1902** [*601*].
[21]) Zeitschr. f. phys. Chem., **XIII**, 379, **1904** [*181*].

eine in p-Stellung befindliche Dimethylaminogruppe bewirkt einen Farbenumschlag nach Violett (vgl. Böniger, Chem. Ber. XXVII, 25 [1894]).

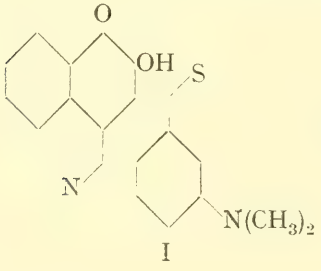
Das Anilin gibt noch in einer Verdünnung von 1:300000 einen roten Niederschlag, bei einer Verdünnung von 1:1000000 tritt noch eine Rötung auf. Außer dem Anilin und seinen Homologen haben Ehrlich und Herter auch die Karbonsäuren (Anthranilsäure, m- und p-Aminobenzoesäure), Sulfosäuren, m- und p-Diamine, Naphtylamine und deren Sulfosäuren mit der Naphtochinonsulfosäure gepaart.

Aber auch die sog. „sauren Methylenverbindungen", also solche, die zu beiden Seiten einer $CH_2$-Gruppe negative Radikale enthalten, liefern charakteristisch gefärbte Kondensationsprodukte. Resorcin und Phloroglucin reagieren ebenfalls, nach der Vermutung der Verfasser in der tautomeren Form als

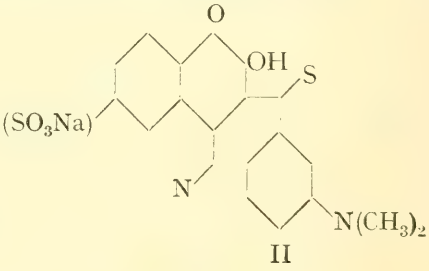



Weiterhin vereinigen sich primäre, aliphatische Amine, Methylamin, dann Camphylamin, und — was schwieriger zu erklären ist, — sekundäre Amine, Piperidin, Diamylamin, Methylanilin mit Naphtochinonsulfosäure zu Farbstoffen; ebenso Pepton, Tyrosin, Harnsäure u. v. a.; der Harn liefert ein orangerotes Produkt.

Für den Biologen ganz besonders interessant sind Farbstoffe mit einem toxisch wirkenden Rest, die es unter Umständen ermöglichen, durch biologische und mikroskopische Prüfung (Färbungen) den Zusammenhang zwischen Verteilung und Wirkung aufzuklären. Die von Ehrlich und Herter aus Adrenalin und Apomorphin (Brenzkatechinderivaten) hergestellten Verbindungen, sowie die sulfierten Thiazinfarbstoffe (Formel I und II) aus Dimethyl-para-phenylendiaminthiosulfosäure einerseits und Naphtochinonmonosulfosäure oder Naphtochinondisulfosäure andererseits haben sich als besonders geeignet für vitale Färbungen erwiesen und ihre Anwendung hat zu außerordentlich interessanten Ergebnissen geführt.




I

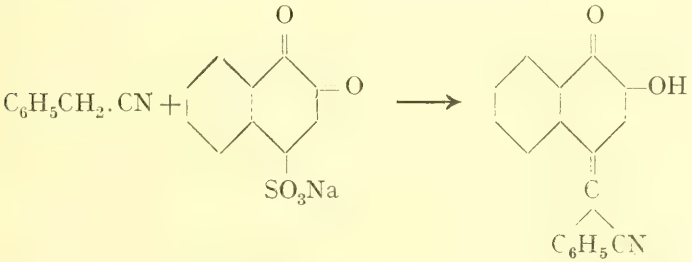



II

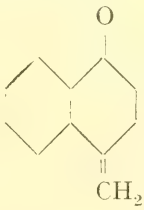
Sehr wichtig sind auch die Versuche, die Kondensation zwischen Amin und Naphtochinonsulfosäure innerhalb des Organismus zu bewerkstelligen. Injiziert man z. B. einem Tier Anilin subkutan und tötet es bei ausgesprochener Vergiftung, so gelingt es leicht, durch Bestreichen der Organe mit einer Lösung von Naphtochinonsulfosäure das Anilin nachzuweisen.

Franz Sachs und Mario Craveri (Chem. Ber. XXXVIII, 3685 [1905]) haben die Kondensationen mit Naphtochinonsulfosäure weiterhin chemisch untersucht und dabei besonders die sauren Methylenverbindungen (bzw. auch Methylverbindungen) berücksichtigt. Nitromethan gibt eine tiefviolette, Trinitrotoluol eine braunrote, Brenztraubensäure eine blaugrüne, Acetessigester eine orangerote, Cyanacetamid eine tiefrotviolette, Phenylpyrazolon eine grünblaue, Rhodaninsäure eine tiefblauviolette Färbung; auch andere Substanzen geben charakteristische Färbungen, so Resorcin violett, Phloroglucin braunviolett, Pyrrol purpurviolett, Piperidin scharlachrot, Piperazin rot (s. a. Herter). Außer diesen Körpern geben noch eine ganze Reihe physiologisch wichtiger Verbindungen intensive Farbreaktionen, die berufen sein dürften, in der Biologie eine große Rolle zu spielen.

Die Reaktion erfolgt stets unter Eliminierung des Sulfonsäurerestes und Eintritt des organischen Restes an dessen Stelle in den Naphtalinkern, Benzylcyanid reagiert also z. B. in folgender Weise:




Die (hypothetische) Grundsubstanz




bezeichnen die Verfasser als:

1.4-Naphtochinon-4-methid.

Die Kondensationsprodukte sind analog den von Liebermann (Chem. Ber. XXXII, 916 [1899]); aus Methylenderivaten und Naphtochinon (oder dessen Halogenderivaten) erhaltenen zusammengesetzt; doch verläuft die Reaktion mit der Sulfosäure glatter, weil das Natriumsalz derselben in Wasser leicht löslich ist. — F. Sachs schreibt (l. c.):

„Die Leichtigkeit, mit der die Ehrlich-Herter sche Reaktion bei sauren Methylenverbindungen sich vollzieht, erlaubt es, Verbindungen dieser Körperklasse bequem und schnell in charakteristische schwer lösliche Substanzen überzuführen, und zwar ebenso glatt, wie mittels der Diazoniumverbindungen, so daß wir zum Nachweis derartiger Körper jetzt folgende Kondensationsreaktionen besitzen:

1. Einwirkung von salpetriger Säure und Bildung von Oximen der entsprechenden Ketone $R.C(:NOH)R'$.
2. Einwirkung von Diazoniumverbindungen und Bildung von Azokörpern:
$$R.CH.(N:NC_6H_5).R'.$$
resp. Hydrazonen: $R.C(:N.NHC_6H_5)R'$.
3. Einwirkung von Aldehyden und Bildung von z. B. Benzylidenverbindungen.
4. Einwirkung von aromat. Nitrosoverbindungen unter Bildung von Azomethinen
$$R.C[:N.C_6H_4N(CH_3)_2].R',$$ (Ehrlich u. F. Sachs).
5. Kondensationen von Naphtochinonsulfosäuren unter Bildung von Naphtochinonmethiden" (Ehrlich-Herter u. d. o. Genannten).

Franz Sachs hat gemeinschaftlich mit Erich Berthold und Bruno Zaar (Z. f. Farbenindustrie 6, 62 u. 141) die Untersuchungen fortgeführt. Die Kondensationsprodukte der sauren Methylenverbindungen mit Naphtochinonsulfosäure sind in Form ihrer Alkalisalze meist intensiv (blau, violett, rot, selten grün) gefärbt, während die freien Phenole gelb, orange oder braun sind und auch Wolle in diesen Tönen färben; sie sind ausnahmslos Beizenfarbstoffe. —

Die Untersuchung basischer Farbstoffe ergab keine einheitlichen Resultate: Chrysanilin lieferte mit Naphtochinonsulfosäure ein normales Kondensationsprodukt (beide $NH_2$-Gruppen reagieren); beim Pararosanilin scheinen nur zwei von den drei Aminogruppen zu kondensieren. Auramin gab ein naphtochinonsulfosaures Salz, was gegen eine Auraminformel (I)

$$Cl(CH_3)_2N:C_6H_4:C(NH_2).C_6H_4N(CH_3)_2 \qquad (I)$$

und für die Formel (II)

$$(CH_3)_2N.C_6H_4.C:(NH.HCl).C_6H_4N(CH_3)_2 \qquad (II)$$

sprechen dürfte.

Einen hübschen Vorlesungsversuch teilen Ehrlich und F. Sachs[22]) in ihrer Abhandlung: „Die Darstellung von Triphenylmethanfarbstoffen aus Brommagnesiumdimethylanilin" mit:

Triphenylmethanfarbstoffe konnten nach der Grignardschen Methode aus Benzophenon einerseits und halogenierten Aminen andererseits bisher nicht dargestellt werden, da es nicht gelang, Halogenderivate von Aminen mit Mg zur Reaktion zu bringen. — Ehrlich und Sachs haben nun diese Schwierigkeit überwunden, indem sie das Mg (durch Äthylbromid und absol. Äther) derart aktivierten, daß es mit Bromdimethylanilin sich zu Brommagnesiumdimethylanilin vereinigte.

Mit der so gewonnenen Lösung dieses Körpers erhält man z. B. leicht aus Michlers Keton das Hexamethyltriaminotriphenylcarbinol (Kristallviolett):

1) $$(CH_3)_2N.C_6H_4.CO.C_6H_4.N(CH_3)_2 + Br.Mg.C_6H_4N(CH_3)_2 \rightarrow (CH_3)_2N.C_6H_4\diagdown\!\!\diagup C\diagup\!\!\diagdown C_6H_4N(CH_3)_2$$ $$Br.Mg.O \qquad\qquad C_6H_4N(CH_3)_2.$$

2) $$(CH_3)_2N.C_6H_4\diagdown\!\!\diagup C\diagup\!\!\diagdown C_6H_4N(CH_3)_2 \qquad\qquad = [(CH_3)_2.N.C_6H_4]_3.C.OH$$ $$(CH_3)_2N.C_6H_4\diagup\!\!\diagdown C \qquad O.MgBr + H.Cl \qquad\qquad + MgClBr.$$

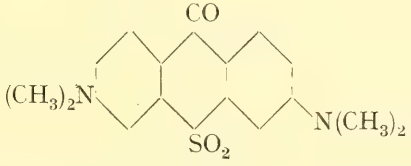
Mit Benzophenon erhält man das orangerote Dimethylaminotriphenylcarbinol; aus aromatischen Säureestern (1 Mol), wie Benzoësäureester, Naphtoësäureester und 2 Molen Dimethylaminophenylmagnesiumbromid entstehen Malachitgrün und seine Derivate. —

Diese Experimente eignen sich sehr schön, um in wenigen Minuten nebeneinander zu demonstrieren, wie das farblose Triphenylcarbinol durch sukzessive Einführung von drei Dimethylaminogruppen orange, grüne, blauviolette Verbindungen liefert, von denen, wie bekannt, nur die beiden letzteren echte Farbstoffe bilden. —

Mit Dimethylaminobenzaldehyd gibt das Dimethylaminophenylmagnesiumbromid das blaue Tetramethyldiaminobenzhydrol.

Derivate des Benzophenons, bei denen die Ketogruppe Teil eines Ringes ist, wie Xanthon, Fluorenon, Acridon, reagieren entweder gar nicht oder sehr schwach.

Das Sulfon des Michlerschen Ketons (F. Sachs, Chem. Ber. XXXIII, 965 [1900])

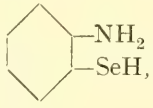



[22]) Ber. d. deutsch. Chem.-Ges., **XXXVI**, 4296, **1903** [*204*].

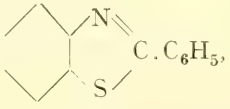
liefert mit dem Phenylmagnesiumbromid einen schön grünen Farbstoff, offenbar ein Sulfon des Malachitgrüns, während das gleiche Keton mit dem Dimethylaminophenylmagnesiumbromid nur bedeutend schwieriger das entsprechende Sulfon des Kristallvioletts bildet. Interessant ist hierbei, daß der Eintritt der $SO_2$-Gruppe keinen wesentlichen Einfluß auf die Farbnuance hat, während ja der Schwefel, sobald er nicht oxydiert ist, als Ringglied eine vollkommene Änderung des Farbcharakters bewirkt.

Eine in manchen Fällen wertvolle Methode, basische Farbstoffe zu isolieren, indem man sie — mit Ammoniumpersulfat — in Form ihrer überschwefelsauren Salze ausfällt, hat Pröscher[23]) in Ehrlichs Laboratorium ausgearbeitet.

Mit der Herstellung des bisher unbekannten o-Aminoselenophenols



das für Farbstoffsynthesen und auch für biologische Zwecke interessant schien, beschäftigte sich, auf Veranlassung Ehrlichs, Hugo Bauer[24]). Die von A. W. Hofmann zur Gewinnung des o-Aminothiophenols benutzte Methode (Zusammenschmelzen von Benzanilid und Schwefel, Bildung von Phenylbenzthiazol



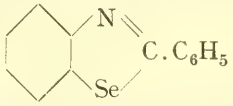
das durch Schmelzen mit Alkali in Benzoesäure und o-Aminothiophenol gespalten wird) versagte hier vollständig. —

Eine zweite Methode — Kondensation von o-Chlornitrobenzol mit NaSeH oder $Na_2Se$ und Reduktion des gewonnenen o-Nitroselenophenols, — lieferte nur geringe Ausbeuten. — Dagegen wurde gefunden, daß o-Nitrodiazobenzol sich mit Selencyankalium glatt unter Bildung von o-Nitrophenylselencyanid umsetzt, wenn man freie Mineralsäure ausschließt, durch welche die Selencyanide sofort zersetzt werden. Mit Alkalien erhält man daraus (auch die p-Nitroverbindung und andere

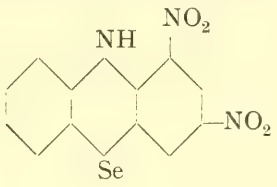
[23]) Chemikerzeitg., **XXIV**, 262, **1900** [*503*].
[24]) Ber. d. deutsch. Chem.-Ges., **XLVI**, 92, **1913** [*248*].

Derivate verhalten sich analog) schon in der Kälte die entsprechenden Selenophenole. Diese wurden, wegen ihrer großen Neigung sich im freien Zustande zu oxydieren, in Form ihrer Zinksalze oder als Diselenide isoliert. —

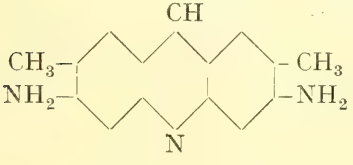
Die alkalische Lösung des o-Nitroselenophenols ist merkwürdigerweise intensiv violett gefärbt, während o-Nitrothiophenol sich mit braunroter Farbe in Alkali löst. — Sie oxydiert sich außerordentlich leicht zum o, $o_1'$-Dinitrodiphenyldiselenid, das sich alkalisch, z. B. mit Hydrosulfit zur Diaminoverbindung reduzieren läßt. Diese wurde dann mit Zinkstaub in das Zinksalz des o-Aminoselenophenols übergeführt, das sich direkt an Stelle des freien Phenols für weitere Synthesen verwenden ließ. So wurde es z. B. mit Benzoylchlorid in das Phenylbenzselenazol




übergeführt. Mit Pikrylchlorid kondensiert, lieferte es Dinitroselenazin

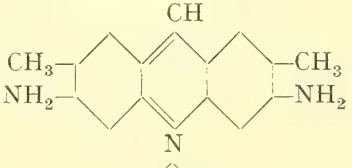



Nachdem Ehrlich im Verein mit Werbitzki gefunden hatte, daß das Akridingelb (Formel I) einen deutlich schwächenden Einfluß auf die Trypanosomenzelle habe (vgl. Werbitzki[25]), der aber nicht ausreichte, um bei infizierten Tieren eine Heilwirkung auszulösen, untersuchte er die von F. Ullmann aus Akridingelb dargestellte Akridiniumverbindung, das 2.7-Dimethyl-3.6-Diamino-10-methylakridiniumchlorid (Formel II), das wir hier kurz als „Akridiniumgelb" bezeichnen wollen, und fand, daß es eine sehr kräftige, trypanozide Wirkung entfalte.




I

Akridingelb (Base)

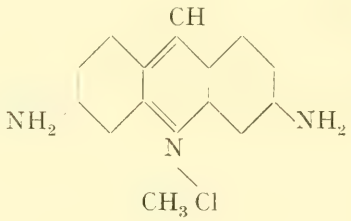



II

Akridiniumgelb

[25]) Centralbl. f. Bakt., **LIII**. 303, **1910** [*604*].

Da aber der Quotient Dosis curativa : Dosis toxica sich als zu groß, d. h. also ungünstig erwies und Ehrlich anderwärts, z. B. beim Vergleich des Fuchsins mit dem para-Fuchsin beobachtet hatte, daß Kern-Methylgruppen dystherapeutisch wirken, so veranlaßte er L. Benda[26]), das niedere Homologe des Akridiniumgelbs, also das 3.6-Diamino-10-Methyl-Akridiniumchlorid (Formel III) herzustellen.



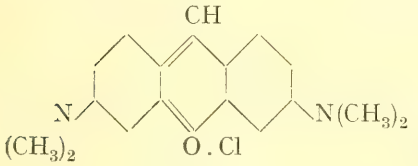
III

Zu diesem Zwecke mußte zunächst eine brauchbare Darstellungsmethode für das bisher nur schwer zugängliche 3.6-Diaminoakridin gesucht werden. Es gelang, eine solche aufzufinden und die Überführung in das Akridiniumderivat bot dann keine Schwierigkeiten mehr. Das neue Präparat zeigt nun tatsächlich die von Ehrlich erwartete Überlegenheit gegenüber dem homologen Akridiniumgelb; bei Dosen gleicher Toxizität ist seine trypanozide Kraft etwa dreimal so hoch, wie die der homologen Verbindung, so daß letztere ein weiteres Beispiel für die dystherapeutische Wirkung der $CH_3$-Gruppe ist. Die Verbindung erhielt von Ehrlich den Namen „Trypaflavin". — Mäuse von 20 g Körpergewicht, die mit einer besonders virulenten Trypanosomenrasse schwer infiziert worden waren, konnten durch einmalige Einspritzung eines Kubikzentimeters einer Lösung von 1 g Trypaflavin in 5500 g Wasser regelmäßig dauernd geheilt werden. Bei der menschlichen Schlafkrankheit wurden mit Trypaflavin — besonders in Kombination mit Arsenikalien und Tryparosan — ermutigende Resultate erzielt. Die weitere Untersuchung des 3.6-Diaminoakridins und seiner Derivate, sowie auch seiner hydroxylhaltigen Analoga (Dioxyakridin usw.) hat zu keinen Präparaten geführt, die dem Trypaflavin therapeutisch überlegen sind.

In der Absicht, eine toxische Gruppe in das Pyronin (welches in noch stärkerem Maße als das Akridingelb auf den Blepharoplast der

[26]) Ber. d. deutsch. Chem.-Ges., **XLV**, 1787, **1912** [*281*].

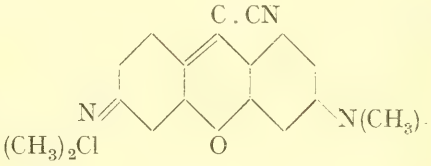
Trypanosomenzelle einwirkt) einzuführen, behandelte Ehrlich diesen roten Farbstoff (Tetramethyldiaminoxanthoniumchlorid) (Formel I) mit Cyankali in der Hitze; es entstand dabei eine neue Leukoverbindung, die bei der Oxydation merkwürdigerweise einen grünblauen Farbstoff (II) von der Nuance des Capriblau (III) lieferte. Die gemeinschaftlich mit L. Benda durchgeführte Untersuchung (l. c. [9]) ergab, daß der neue blaue Farbstoff sich in seiner empirischen Zusammensetzung von dem Ausgangsprodukt durch den Mehrgehalt an **CN** und den Mindergehalt an H unterschied. Wahrscheinlich ist für den enormen Farbenumschlag nicht allein der Eintritt der **CN**-Gruppe, sondern in erster Linie ein Bindungswechsel, ein Übergang vom orthochinoiden in den parachinoiden Typus verantwortlich zu machen, was durch die Formelbilder (I und II) veranschaulicht werden soll




Pyronin (rot)

I

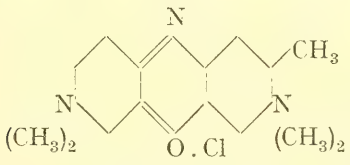
orthochinoid




Cyanpyronin (blau)

II

parachinoid

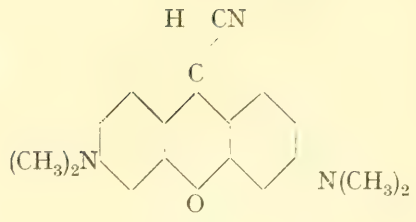



Capriblau (blau)

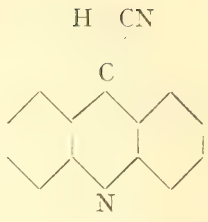
III

Sehr interessant ist, daß das Capriblau (III), das an Stelle von C.CN einen Ringstickstoff N enthält (Azoxoniumfarbstoff), fast genau die gleiche Nuance besitzt, wie das Cyanpyronin.

Die Leukoverbindung dieses letzteren ist als Tetramethyldiamino-ms-Cyanxanthen (Formel IV) anzusprechen; sie ist ein Sauerstoffanalogon des von A. Kaufmann und A. Albertini (Chem. Ber. **XLII**, 2004, [1909]) aus Akridinchlormethylat dargestellten N-Methyl-ms-cyan-akridans (V).



(IV)



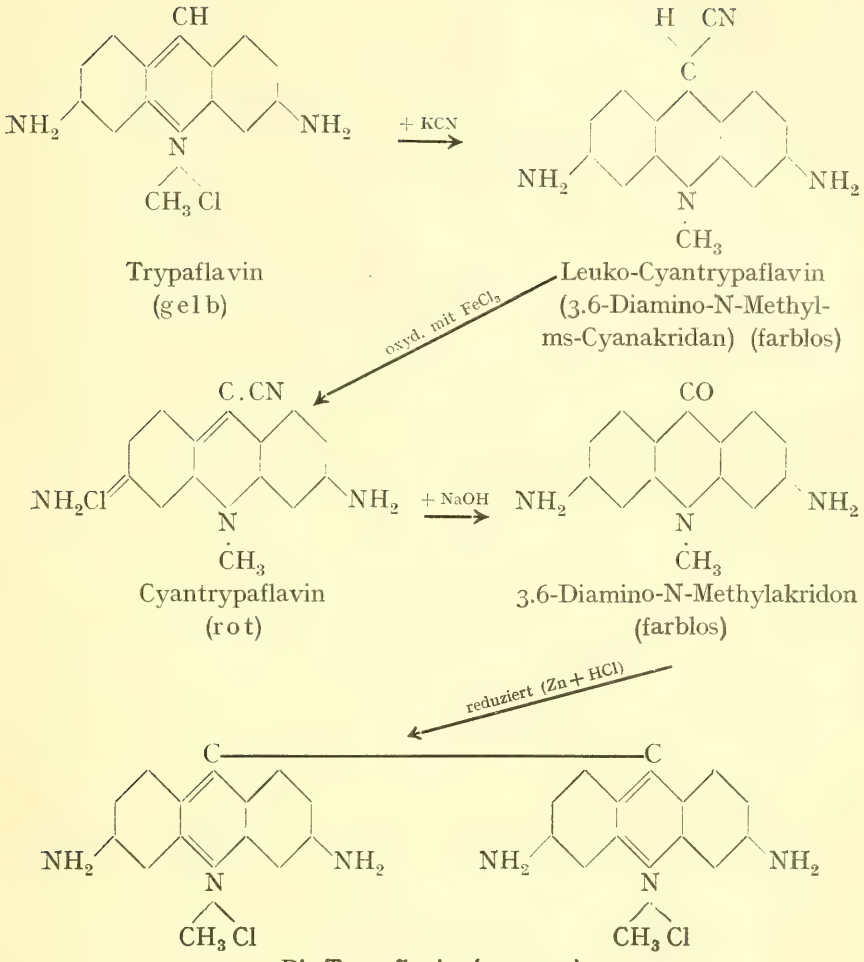
(V)

Ehrlich und Benda haben dann auf gleichem Wege wie das Cyanpyronin, aus dem gelben Trypaflavin (3.6-Diamino-10-methylakridiniumchlorid, s. o.) ein safraninrotes Cyantrypaflavin, und aus dem von F. Ullmann beschriebenen Akridiniumorange (3.6-Tetramethyldiamino-10-methylakridiniumchlorid) ein tiefviolettes Cyanakridiniumorange hergestellt.

Auch diese Cyanfarbstoffe zeigen die gleiche Nuance, wie die entsprechenden cyanfreien, an Stelle von C.CN einen Ringstickstoff N enthaltenden Farbstoffe (Azoniumfarbstoffe).

Die neuen Cyanfarbstoffe, deren Untersuchung in biologischer Richtung noch nicht ganz abgeschlossen ist, gehen beim Erwärmen mit Alkali glatt in Xanthon-, bzw. Akridonderivate über, die durch Reduktion unter ganz bestimmten Bedingungen wiederum neue, technisch wertvolle Farbstoffe liefern.

Diese Reduktionsprodukte sind quasi die Verdoppelungen (siamesischen Zwillinge) der Ausgangsfarbstoffe: aus dem rein gelben Trypaflavin entsteht beispielsweise ein orangefärbendes Bis-Trypaflavin nach folgendem Schema:




**Bis-Trypaflavin (orange)**

Auf ganz analogem Wege wurde aus dem Akridiniumorange ein feurig rosa färbendes Bis-Akridiniumorange, aus dem Pyronin ein violettes Bispyronin gewonnen.

Was den Reaktionsmechanismus — die „Verdoppelung" bei der Reduktion des Xanthons, resp. Akridons — anbelangt, so glauben Ehrlich und Benda, daß aus dem Akridon a durch Reduktion sich ein Pinakon b bilde, das beim Erhitzen in saurer Lösung direkt in den Farbstoff c übergehe:

a) $CH_3 . N\begin{<}{C_6H_3(NH_2)}{C_6H_3(NH_2)}\end{>}CO$ (Akridon)

b) $CH_3 . N\langle^{C_6H_3(NH_2)}_{C_6H_3(NH_2)}\rangle C(OH) - C(OH)\langle^{C_6H_3(NH_2)}_{C_6H_3(NH_2)}\rangle N . CH_3$ (Pinakon)

c) $CH_3 . N\langle^{C_6H_3(NH_2)}_{C_6H_3(NH_2)}\rangle C . C\langle^{C_6H_3(NH_2)}_{C_6H_3(NH_2)}\rangle N . CH_3$ (Cl an beiden N)

(Bis-Trypaflavin.)

Diese Ansicht widerspricht der von Decker und Dunant (Chem. Ber. XLII, 1176 [1909]) in einem ähnlichen Fall geäußerten, insofern, als diese Forscher bei der Reduktion des (nicht amidierten) N-Methylakridon $CH_3 . N\langle^{C_6H_4}_{C_6H_4}\rangle Co$ die Bildung eines weiter reduzierten Zwischenproduktes, des Dimethylbi-akridens d

d) $CH_3 . N\langle^{C_6H_4}_{C_6H_4}\rangle C = C\langle^{C_6H_4}_{C_6H_4}\rangle N . CH_3$

annehmen, das erst durch Oxydation (nach Decker und Dunant mit verdünnter Salpetersäure) in das Pinakon übergehe.

Da Ehrlich und Benda bei ihren mit den amidierten Akridonen angestellten Versuchen unter Ausschluß von Sauerstoff (in Kohlensäureatmosphäre) die Pinakone und aus diesen durch bloßes Erwärmen (im Kohlensäurestrom) die „Bis-Farbstoffe" erhalten haben, so trifft die Dunant-Deckersche Theorie, wenigstens für den vorliegenden Fall, nicht zu.

Überblicken wir die in diesem Aufsatze behandelten chemischen Arbeiten, so sehen wir, daß hier in ungewöhnlicher Erscheinung Chemie und Medizin durch einen und denselben Forschergeist schöpferische Förderung erfahren haben. Nur durch diese seltene Vereinigung konnte das Endziel, das Ehrlich stets als Ideal vorschwebte: die chemische Forschung der Medizin nutzbar zu machen, erreicht werden. In diesem Sinne galt Ehrlich die Chemie an erster Stelle als ein Mittel zum Zweck, und, wie sein Ideal in der praktischen Therapie ersehnte Verwirklichung fand, das zeigt der jüngste Erfolg der von ihm begründeten Chemotherapie: Ihr dankt die Medizin das Salvarsan; die chemische Wissenschaft aber wurde bereichert durch eine ungeahnte Vermehrung unserer Kenntnisse auf dem Gebiete der aromatischen Arsenverbindungen. Diesen soll der folgende Abschnitt gewidmet sein.

3.

# Chemie der Arsenverbindungen.

Von

**A. Bertheim,**
Frankfurt a. M.

Den organischen Arsenverbindungen ist in der Geschichte der Chemie ein wechselvolles Schicksal zuteil geworden. Im Jahre 1760 destillierte Cadet arsenige Säure mit Kaliumacetat und erhielt als erster eine organische Arsenverbindung, die nach ihm benannte „rauchende arsenikalische Flüssigkeit", deren Natur jedoch ihrem Entdecker völlig unbekannt geblieben ist. Kaum erfolgreicher verliefen mehrere Jahrzehnte später Versuche von Thénard und theoretische Betrachtungen von Berzelius, Laurent, Dumas, Gerhardt. Erst Altmeister Bunsen sprach das Schöpfungswort, und seine klassischen Arbeiten (1837—1843) verbreiteten helles Licht über eine ganze Gruppe arsenierter Stoffe, die sog. Kakodylverbindungen. Diese sehen wir damit in den Vordergrund wissenschaftlicher Betrachtung gerückt, erschienen sie doch als Hauptstützen der damals herrschenden, aber alsbald heftig befehdeten Radikaltheorie. So nimmt es nicht wunder, wenn in der Folgezeit eine intensive Bearbeitung des Gesamtgebietes einsetzte, und Namen vom besten Klange, wie Baeyer, Landolt, Hofmann daran beteiligt sind. Anfang der 60er Jahre ist ein gewisser Abschluß erreicht für die Substanzen mit aliphatischen Resten. Im Jahre 1875 beginnt Michaelis seine Untersuchungen über die aromatischen Arsenverbindungen, von denen er weiterhin eine große Anzahl darstellt und eingehend beschreibt. Nachdem jedoch die Grundformen der verschiedenen Klassen bekannt geworden sind, fördert die Untersuchung der zahlreichen Homologen und Analogen keine neuen Resultate mehr zutage und das Interesse erlahmt zusehends. Um das Arsengebiet aus diesem Tiefstand zu einer neuen Blüte emporzuführen, bedurfte es eines ganz neuen Leitmotivs. Dieses wurde von

Ehrlich geschaffen, indem er biologisch-medizinische und chemische Forschung in fruchtbare Wechselwirkung zueinander brachte und zu einer neuen Wissenschaft, der Chemotherapie, verband.

Seit altersher kennt die Medizin den Gebrauch anorganischer Arsenpräparate, insbesondere der arsenigen Säure. In dem Bestreben, die giftigen Nebenwirkungen dieses Stoffes zu vermeiden bei möglichster Erhaltung des pharmakodynamischen Effektes, griff man um die Wende des 19. Jahrhunderts zu Substanzen, die, wie das methylarsinsaure Natrium (Arrhenal) und die Kakodylsäure bzw. deren Salze das Arsen an einen organischen Rest gebunden enthalten. Ein derartiges Präparat war auch das Atoxyl, das im Jahre 1902 in den Handel kam. Zur gleichen Zeit machten Ehrlich und Shiga ihre grundlegenden chemotherapeutischen Versuche, parasitäre Erkrankungen durch Injektion von Chemikalien zu heilen. Bei ihren Arbeiten versuchten die beiden Forscher auch die Wirkung des Atoxyls auf Trypanosomen, doch ihr Stamm, der damals einzige in den Instituten vorhandene, gehörte zu denjenigen, die mit Arsenikalien nicht reagieren. So wurde keine Beeinflussung beobachtet. Nachdem jedoch im Jahre 1905 im Liverpooler Tropeninstitut Thomas und Breinl bei einem anderen gegen Arsen außerordentlich empfindlichen Parasitenstamm eine günstige Einwirkung des Atoxyls festgestellt hatten, wandte Ehrlich der Substanz von neuem sein Interesse zu. Er machte dabei die überraschende Entdeckung, daß das Präparat in mineralsaurer Lösung salpetrige Säure verbrauchte und dadurch die Fähigkeit erlangte, mit Azokomponenten zu Azofarbstoffen zu kuppeln, die ebenfalls noch den Arsenrest enthielten. Diese Tatsache war mit der damaligen Auffassung des Atoxyls als eines Metaarsensäureanilids von der Formel $C_6H_5NHAsO_2$ (Chem. Centrbl. 1902, I, 947) nicht in Einklang zu bringen. Ehrlich vereinigte sich nun mit dem Verfasser und durch eingehende weitere Versuche wurde die wahre Konstitution des Atoxyls erschlossen[1])[2])[3]) (1906). Die Hauptpunkte sind kurz folgende:

1. Das Atoxyl ist das Mononatriumsalz einer wohlcharakterisierten, gut kristallisierenden Säure. Diese „Atoxylsäure" entsteht beim Erhitzen von Arsensäure mit Anilin bzw. von arsensaurem Anilin und wurde schon 1863 von Béchamp beobachtet, aber irrtümlich für Orthoarsensäureanilid, $C_6H_5NH.AsO(OH)_2$, gehalten. In Wirklichkeit kann die Substanz kein Anilid darstellen, denn

2. sie ist von großer Beständigkeit gegen hydrolysierende Agenzien.

[1]) Berichte der Deutschen Chem. Ges., **XL**, 3292, **1907** [*162*].

[2]) Pharmazeutische Zeitung, Nr. 35, **1907** [*163*].

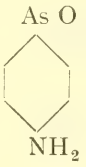
[3]) Med. Klinik, H. 43, **1907** [*164*].

3. Die Säure enthält ferner eine primäre Aminogruppe; denn sie läßt sich mit Leichtigkeit diazotieren und in Azofarbstoffe überführen und bildet ein intensiv rotes Kondensationsprodukt mit $\beta$-naphtochinon-sulfosaurem Natrium. Alle diese Derivate enthalten noch den Arsensäurerest, daher ist

4. der Arsensäurerest am Benzolkern verankert; die Atoxylsäure, mit anderen Worten, gehört zu den aromatischen Arsinsäuren. Dies geht auch aus ihrem Verhalten gegen Magnesiamischung, sowie Calciumchlorid, das dem der anderen primären Arsinsäuren entspricht (Niederschlagsbildung erst in der Hitze), hervor, sowie aus der Tatsache, daß sich der Arsensäurerest durch Jod sehr glatt ersetzen läßt; hierbei entsteht ausschließlich

5. Parajodanilin, also stehen Arsensäurerest und Aminogruppe zueinander in *para*-Stellung.

Die Atoxylsäure besitzt mithin die Konstitution einer p-Aminophenyl-arsinsäure




Ihre Bildung beim Erhitzen von arsensaurem Anilin hat offenbar große Ähnlichkeit mit der Entstehung der Sulfanilsäure aus schwefelsaurem Anilin. In Anlehnung an die gebräuchliche Terminologie wurde daher für die p-Aminophenylarsinsäure der Name „Arsanilsäure", für den Darstellungsprozeß die Bezeichnung „Arsenierung" eingeführt.

Die Aufklärung der Konstitution des Atoxyls war von fundamentaler Bedeutung. Mit einem leicht spaltbaren Anilid war chemisch nichts anzufangen, von einer beständigen p-Amino-phenylarsinsäure aber durfte man erwarten, daß sie die zahlreichen Reaktionen des Anilins mit denjenigen der Arsinsäuren in sich vereinigen und noch besondere Eigenschaften besitzen würde, die aus der Kombination beider sich ergeben. So lag denn wohl zum erstenmal ein biologisch wirksamer Körper vor, der nicht nur seiner Struktur nach genau bekannt, sondern auch — im Gegensatz etwa zu den Alkaloiden — von einfacher Zusammensetzung und außerordentlicher Reaktionsfähigkeit war, die eine Fülle von Umformungen ermöglichten. Damit konnte die Chemotherapie „von dem rein empirischen Herumprobieren Abstand nehmen und die chemische Synthese einführen" (Ehrlich).

Bei synthetisch chemischen Arbeiten bildet die Herbeischaffung der erforderlichen Mengen an Ausgangsmaterial eine nicht geringe Sorge. Ein Vertrag mit dem Produzenten des Atoxyls, den Vereinigten chemischen Werken, A.-G., Charlottenburg, kam nicht zustande. So unternahm es denn Benda im Laboratorium von L. Cassella & Co., die Darstellung der Arsanilsäure zu studieren. Dabei entdeckte er[4]), daß die Arsenierung nicht bei der Bildung der primären Arsinsäure stehen bleibt, sondern daß ein Teil der letzteren mit einem weiteren Molekül Anilin reagiert unter Bildung einer sekundären Verbindung:

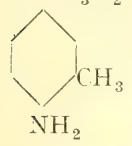
$$NH_2.C_6H_4.AsO_3H_2 + NH_2.C_6H_5 = (NH_2.C_6H_4)_2AsO_2H + H_2O.$$

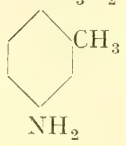
Diese sekundäre „Diamino-diphenyl-arsinsäure" ist der rohen Arsanilsäure in nicht unerheblicher Menge beigemischt. Die Trennung gelang unter Benutzung der Feststellung, daß das Natriumsalz der sekundären Verbindung in Alkohol leichter löslich ist als dasjenige der primären. Mit der so isolierten Diamino-diphenyl-arsinsäure konnten dann eine Reihe Reaktionen angestellt werden, wie sie schon für die Arsanilsäure aus der Anwesenheit der Aminogruppe sich ergeben hatten und unten ausführlicher betrachtet werden sollen (Diazotierung, Azofarbstoff- und Phenolbildung, Acylierung). Hervorgehoben sei, daß auch im zweiten Benzolkern Arsen und Stickstoff in *para*-Stellung zueinander stehen; denn auch die Diamino-diphenyl-arsinsäure liefert beim Ersatz des Arsensäurerestes durch Jod ausschließlich *para*-Jodanilin.

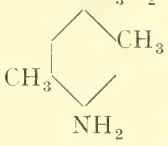
Einen weiteren Schritt vorwärts tat Benda, indem er nun auch die Anilinhomologen (und substituierten Aniline) der Arsenschmelze in Gemeinschaft mit R. Kahn unterwarf[5]). Auch hier tritt der Arsensäurerest in den aromatischen Kern ein, und zwar sucht er stets die *para*-Stellung zum Stickstoff auf, sofern diese frei ist; dies läßt sich im Einzelfall mittels des Ersatzes von Arsen durch Jod beweisen. Ist aber die *para*-Stellung besetzt, so erfolgt entweder überhaupt keine Arsenierung, oder der Arsensäurerest tritt in die *ortho*-Stellung, es werden *ortho*-Arsanilsäuren gebildet, meist allerdings mit schlechter Ausbeute (vgl. Benda[6])). So wurden von *para*-Verbindungen, den echten Homologen der Arsanilsäure erhalten:

4-Amino-3-methyl-phenylarsinsäure, o-Toluidinarsinsäure (I), 4-Amino-2-methylphenyl-arsinsäure, m-Toluidinarsinsäure (II), 4-Amino-2,5 dimethyl-phenylarsinsäure, p-Xylidinarsinsäure (III), 4-Amino-naphtylarsinsäure, *α*-Naphtylaminarsinsäure (IV), 4-Amino-3-chlor-phenyl-arsinsäure (V).

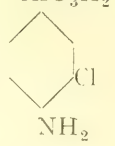
[4]) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., **XLI**, 2367, **1908** [*273*].
[5]) Ebenda, **XLI**, 1672, **1908** [*283*].
[6]) Ebenda, **XLII**, 3619, **1909** [*274*].

I 

II 

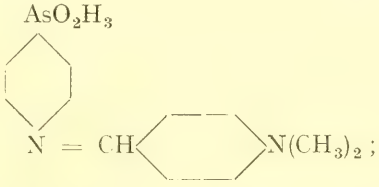
III 

IV

V 

In biologischer Beziehung stehen diese Substanzen allerdings dem Atoxyl nach; es stimmt dies überein mit Beobachtungen, die Ehrlich auch bei anderen Körperklassen gemacht hat, und die er in dem Satze zusammenfaßt: die Methylgruppe wirkt dystherapeutisch. Die Bedeutung der Atoxylhomologen liegt vielmehr auf chemischem Gebiete, indem diese Substanzen ein wertvolles Ausgangsmaterial für die Synthese gewisser Arsanilsäurederivate darstellen.

Wenden wir uns jedoch zunächst der Arsanilsäure selbst wieder zu, die inzwischen nach verschiedenen Richtungen hin chemisch und biologisch bearbeitet worden war. Als primäres Amin zeigt die Arsanilsäure die Ehrlich-Hertersche Reaktion[7]): mit $\beta$-Naphtochinonsulfosäure entsteht ein rotes Kondensationsprodukt, das, im Gegensatz zu dem analogen Körper aus Anilin, infolge der Anwesenheit des Arsensäurerestes in Soda spielend löslich ist. Der von Ehrlich für gewisse Harnreaktionen eingeführte p-Dimethylaminobenzaldehyd liefert mit Arsanilsäure eine schön orangefarbene Azomethinverbindung



entsprechende Produkte wurden mit anderen Aldehyden erhalten, wobei Formaldehyd und namentlich Oxyaldehyde, wie p-Oxybenzaldehyd, Resorcyl-, Phloroglucinaldehyd, zur Anwendung gelangten (D.R.P. 193542, Chem. Centrbl. 1908, I, 999). Der Azomethingruppe — N = CH — verwandt, aber gegen hydrolysierende Einflüsse beständig ist die Azogruppe — N = N —. Durch Diazotierung der Arsanilsäure und Kupplung der erhaltenen Diazophenylarsinsäure mit den mannigfaltigsten Komponenten konnte ein schier unübersehbares Heer arsenhaltiger Azofarbstoffe dargestellt werden (l. c. [1] und D.R.P. 205449; Chem. Centrbl. 1909, I, 600).

Die soeben erwähnte Diazophenylarsinsäure ließ sich für zahl-

[7]) Zeitschr. f. physiol. Chem., **XLI**, 379, **1904** [*181*].

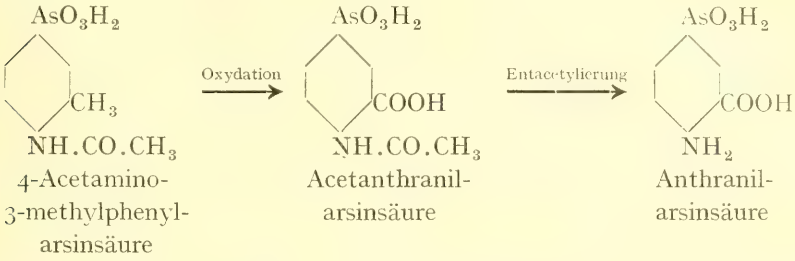
reiche weitere Reaktionen nutzbar machen. Sie unterliegt nämlich in normaler Weise den typischen Diazospaltungen. So konnte Bertheim[8]) daraus durch Austausch der Diazogruppe gegen Wasserstoff, gegen die Äthoxyl- bzw. Carboxylgruppe Phenylarsinsäure, Phenetylarsinsäure bzw. p-Benzarsinsäure erhalten und für diese zwar bekannten, aber bis dahin schwer zugänglichen Körper bequeme Darstellungsmethoden ausarbeiten. Neu stellte er (vgl. auch D.R.P. 205449; Chem. Zentrbl. 1909, I, 600) aus der Diazoverbindung p-Chlorphenylarsinsäure und p-Oxyphenylarsinsäure (Phenolarsinsäure), $OH.C_6H_4.AsO_3H_2$, dar, welch letztere später zu besonderer Bedeutung gelangte. Entsprechende Reaktionen wurden mit den Diazoverbindungen der Arsanilsäurehomologen angestellt und so z. B. aus o-Toluidinarsinsäure o-Kresolarsinsäure (4-Oxy-3-methylphenylarsinsäure), $OH.C_6H_3(CH_3).AsO_3H_2$, erhalten (l. c. [5]).

Derartige Körper stehen zwar in genetischer, aber immerhin schon entfernterer Beziehung zur Arsanilsäure. Als deren nächste Verwandte erscheinen vielmehr Substanzen, die man durch Einführung von Säureresten in die Aminogruppe erhält; lassen sich doch solche Acylierungsprodukte durch eine einfache Hydrolyse mit Leichtigkeit in die Stammsubstanz, die Arsanilsäure, zurückverwandeln. Hier fand die Synthese wieder reiche Betätigung. Unter Heranziehung der verschiedenen Acylierungsmethoden wurden zunächst die Radikale der Fettsäuren von der Ameisensäure bis zur Valeriansäure und weiter der Palmitin- und Stearinsäure eingeführt; es folgten substituierte und mehrbasische Fettsäuren (Chloressigsäure, Trichloressigsäure, Oxalsäure, Malonsäure, Bernsteinsäure usw.) und Säuren der aromatischen Reihe in reicher Auswahl. Den eigentlichen Acylprodukten schloß sich die Darstellung von Urethanen, Harnstoff- und Thioharnstoffabkömmlingen der Arsanilsäure an. Ferner ist in diesem Zusammenhange die Bereitung der p-Phenylglycinarsinsäure

aus Arsanilat und Chloressigsäure zu nennen. In der Reihe der Arsanilsäurehomologen haben Kahn und Benda die von ihnen dargestellten Acetylprodukte (l. c. [5]) zu einer weiteren Synthese benutzt. Es gelang,

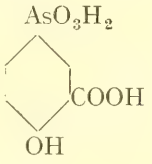
[8]) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., **XLI**, 1853, **1908** [289].

die aliphatischen Seitenketten zu Carboxyl zu oxydieren und so zu Carbonsäuren der Arsanilsäure[9]) zu gelangen nach folgendem Schema:



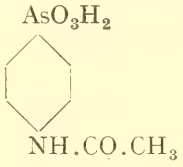

4-Acetamino-3-methylphenylarsinsäure — Acetanthranilarsinsäure — Anthranilarsinsäure

Aus der Anthranilarsinsäure konnte durch Diazotieren und Verkochen die interessante Salicylarsinsäure




gewonnen werden.

Bei der biologischen Untersuchung aller dieser zahlreichen Präparate gewann schließlich ein einfach konstituiertes Derivat der Arsanilsäure besondere Bedeutung. Es war dies die Acetarsanilsäure (l. c. [1])



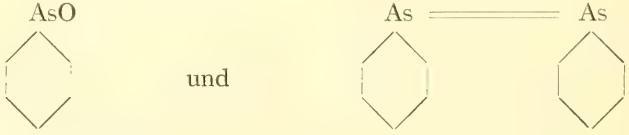

bzw. deren Mononatriumsalz. Diese Substanz ist für viele Tierspezies 3—10mal weniger giftig als der nicht acetylierte Körper, andererseits ist ihr Heilwert dem des Arsanilats gleichwertig. Da man nun von der acetylierten Verbindung infolge der geringeren Toxizität weit größere Dosen verabreichen kann, so erzielt man mit ihr weit bessere Heilresultate als mit dem Arsanilat selbst (Ehrlich[10])). Es schien also ein Stoff gefunden, der dem Atoxyl therapeutisch überlegen war, und der übrigens vor letzterem den weiteren, mehr technischen Vorteil besaß, daß seine wässerigen Lösungen beständig sind und durch Kochen, ja selbst im Autoklaven bei 130°, sterilisiert

[9]) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., **XLI**, 3859, **1908** [*381*].
[10]) Ebenda, **XLII**, 24—25, **1909** [*108*].

werden können. (Vergl. hierzu E. Schmitz[10a]). Auf diese Feststellungen hin wurde die neue Substanz in die Humanmedizin eingeführt und im Jahre 1908 durch die Farbwerke vorm. Meister Lucius & Brüning Höchst unter dem Namen „Arsacetin" in den Handel gebracht.

Aber das Arsacetin entsprach den Erwartungen nicht. Es erwies sich, ebensowenig wie Atoxyl, als frei von Nebenwirkungen, insbesondere auf den Sehnerv, sobald größere Dosen in Frage kamen. Eine energische Bekämpfung der schweren parasitären Krankheiten, eine „Therapia magna" war mit diesem Mittel nicht durchführbar. Von den zahlreichen anderen bisher synthetisierten Arsinsäuren war nichts Besseres zu erwarten, hatten sie sich doch im Tierversuch ungünstiger als Arsacetin gestellt. Um diesen toten Punkt zu überwinden, mußte ein gänzlich neuer Weg eingeschlagen werden: die Richtung dafür fand Ehrlich (l. c. [10], S. 25ff.) in Versuchen und Betrachtungen über den Mechanismus der Arsanilatwirkung. Atoxyl und Arsacetin, die im trypanosomeninfizierten Organismus sterilisierende Wirkung entfalten, töteten „in vitro" die Parasiten nicht ab. Dieser auffällige Unterschied brachte Ehrlich auf den Gedanken, daß die Arsenikalien im Körper des Versuchstieres, wenigstens zum Teil, eine Veränderung erleiden und in ein Umwandlungsprodukt von starker Wirksamkeit übergehen. Für Ehrlich, der einst über die Reduktionskraft der tierischen Gewebe gearbeitet hatte, war es das Nächstliegende, in dem Umwandlungsprozeß eine Reduktion zu erblicken. Damit war der neue Standpunkt gewonnen, und es galt nun solche am Arsen reduzierten Verbindungen, wie sie möglicherweise aus den Arsinsäuren, Atoxyl, Arsacetin usw. im Organismus gebildet werden, im Laboratorium darzustellen und ihre Wirksamkeit zu erproben.

Die Konstitutionsbestimmung hatte die Arsanilsäure in die Klasse der primären aromatischen Arsinsäuren eingereiht, deren Muttersubstanz, die Phenylarsinsäure, nach den Arbeiten von Michaelis, die Reduktionsstufen

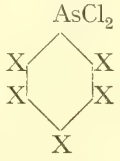



Phenyl-arsinoxyd Arsenobenzol

bildet. Substitutionsprodukte dieser einfachsten Grundformen waren damals im wesentlichen nur in Form von homologen oder doch solchen Verbindungen bekannt, deren Benzolkern noch einen kohlen-

[10a]) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., **XLVII**, 363, **1914** [*612*].

wasserstoffartigen Charakter trug. Nun konnten Ehrlich und Bertheim[11]) von vornherein feststellen, daß der Eintritt der reaktionsfähigen Gruppen $NH_2$, $NR_1R_2$, OH usw. in das Molekül der Phenylarsinsäure die Reaktionsfähigkeit und die Empfindlichkeit der Reduktionsprodukte derart steigerte, daß ihre Reindarstellung vielfach äußerst schwierig wurde. Die alten Reduktionsmethoden zur Gewinnung von Arsenoverbindungen versagten gewöhnlich den Dienst; Arsenoxydverbindungen waren überhaupt bisher fast ausschließlich auf synthetischem Wege dargestellt und höchstens ganz vereinzelt durch Reduktion von Arsinsäuren erhalten worden. Es mußten also ganz neue Arbeitsweisen geschaffen werden. Je nachdem man aus den Arsinsäuren ein Sauerstoffatom (Bildung von Arsinoxyden) oder zwei (Arsenoverbindungen) herausnehmen wollte, brauchte man schwächere oder stärkere Reduktionsmittel. Für den ersteren Zweck erwies sich die schweflige Säure als ein sehr brauchbares Reagens, nachdem es gelungen war, ihre Wirkung durch Zusatz einer geringen Menge von Jodwasserstoffsäure zu katalysieren. Dabei wirkt der Jodwasserstoff reduzierend auf die Arsinsäure ein, das freigemachte Jod, das als solches umgekehrt oxydierend wirken würde, wird durch die schweflige Säure sofort in Jodwasserstoff zurückverwandelt, der so immer wieder regeneriert wird und die Reaktion zu Ende führen kann. Diese Methode zur Darstellung von Arsinoxyden ist mit kleinen Modifikationen allgemeinster Anwendung fähig. Zum gleichen Ziel führt, aber nicht immer, Einwirkung von Phenylhydrazin (nach Untersuchungen von Schmitz, l. c. [11]) oder von Phosphorchloriden auf die Arsinsäuren. Im letzteren Falle entstehen zunächst Arsinchloride (bzw., bei Anwesenheit basischer Gruppen, deren Chlorhydrate) der allgemeinen Formel



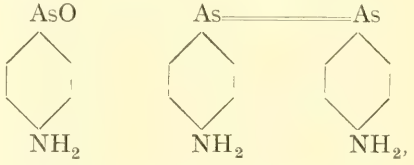

(X = H oder substituierende Gruppen);

mit Alkalien geben diese Chloride die entsprechenden Arsinoxyde, aus denen sie umgekehrt durch Behandlung mit starker Halogenwasserstoffsäure erhalten werden können (vgl. Bertheim[12]). — Um die substituierten Arsenoverbindungen zugänglich zu machen, haben

[11]) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., **XLIII**, 917, **1910** [*166*].
[12]) Ebenda, **XLIV**, 1070, **1911** [*291*].

Ehrlich und Bertheim[13]) verschiedene Wege eingeschlagen. Die „direkte Reduktion" einer Arsinsäure zum entsprechenden Arsenokörper gelang, wenn man Natriumhydrosulfit in gelinder Wärme einwirken ließ. Dieses schöne Reagens, das damals im wissenschaftlichen Laboratorium noch weniger gewürdigt wurde als in der Technik, leistete vorzügliche Dienste; denn einmal besaß es die Energie, beide Sauerstoffatome herauszunehmen, und weiter brachte die Abwesenheit von starken Alkalien sowie starken Säuren den großen Vorteil mit, daß die Reduktion im allgemeinen auf dem gewünschten Punkt stehen blieb, weitergehende Zersetzungen der gebildeten Arsenoverbindungen also vermieden wurden. Ideal war freilich auch der Hydrosulfitprozeß nicht; die Anwesenheit gewisser Substituenten im Molekül konnte zu Komplikationen führen, auch waren die erzielten Produkte häufig ziemlich unrein. Für solche Fälle wurde eine „stufenweise Reduktion" ausgearbeitet. Nach den oben geschilderten Verfahren stellte man zunächst das Arsinoxyd dar und reduzierte dies dann zur Arsenoverbindung weiter. Die letztere Operation gelang beispielsweise mit Natriumamalgam (bearbeitet von Schmitz, l. c. [13]), mit Zinnchlorür-Salzsäure oder auch mit Natriumhydrosulfit in der Kälte. Die Mitte zwischen dem direkten und dem stufenweisen Reduktionsverfahren hält gewissermaßen die Einwirkung von Zinnchlorür + Jodwasserstoffsäure auf Arsinsäuren; der Jodwasserstoff wirkt hierbei katalytisch, indem er Arsinoxydverbindung bildet, die in statu nascendi vom Zinnchlorür zur Arsenoverbindung reduziert wird; gleichzeitig regeneriert das Zinnchlorür den Jodwasserstoff, und das gleiche Spiel kann von neuem beginnen. Anhangsweise sei noch die Behandlung der Arsinsäuren bzw. der Arsinoxyde mit Schwefelwasserstoff oder Schwefelalkali erwähnt, die zu am Arsen geschwefelten Verbindungen führte.

Mit diesem Rüstzeug konnten nun also die mannigfaltigen, früher dargestellten substituierten Arsinsäuren in die zugehörigen Reduktionsprodukte übergeführt werden, und die genauere Erforschung derselben lieferte alsbald sehr bedeutsame Resultate. Der Arsanilsäure entsprechen als reduzierte Körper das p-Amino-phenyl-arsinoxyd (I) und das p, p'-Diamino-arsenobenzol (II)



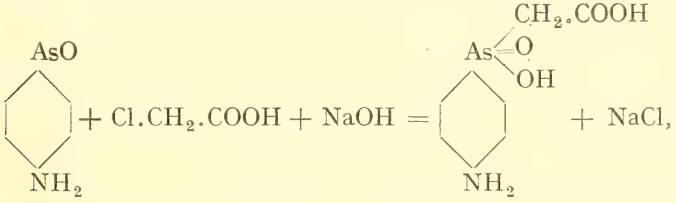

I II

[13]) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., **XLIV**, 1260, **1911** [*167*].

ersteres noch farblos und alkalilöslich, letzteres hellgelb gefärbt und nur mehr in Säure löslich. Die wichtigste Eigenschaft dieser Körper ist aber die folgende; während in der Arsinsäure das Arsen im fünfwertigen, im Sättigungszustande sich befindet und daher indifferent ist, enthalten das Arsinoxyd und die Arsenoverbindung dreiwertiges Arsen, das durch diesen ungesättigten Zustand reaktionsfähig geworden ist. So genügt schon ein kurzes Aufkochen mit wässeriger Salzsäure, um das Aminophenylarsinoxyd zu spalten, wobei hauptsächlich Triaminotriphenylarsin und arsenige Säure (neben Anilin) entstehen:

$$3NH_2.C_6H_4AsO = (NH_2.C_6H_4)_3As + As_2O_3;$$

so wird Diamino-arsenobenzol schon durch Erwärmen mit Eisessig in eine rotbraune Substanz verwandelt. Noch schärfer aber dokumentiert sich die ungesättigte Natur der Reduktionsprodukte durch ihre Neigung, Atome oder Reste zu addieren und so wieder zum Sättigungszustand des Arsens zurückzukehren. Sauerstoff wird so leicht aufgenommen, daß die Arsinoxyde und mehr noch die Arsenoverbindungen kräftig reduzierend wirken. Auch Kohlenstoffreste können addiert werden; Aminophenylarsinoxyd geht beispielsweise in alkalischer Lösung durch Chloressigsäure in eine sekundäre Arsinsäure über



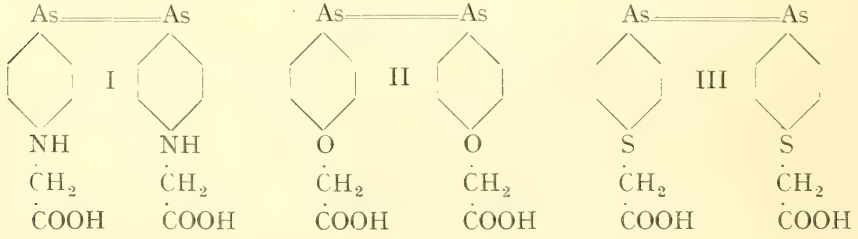

und auch mit Arsenoverbindungen lassen sich nach Bertheim[13a]) solche Additionsreaktionen ausführen.

Ebenso aktiv wie der chemische ist nun auch der biologische Charakter der Reduktionsprodukte. Die Toxizität ist bedeutend erhöht, am stärksten für die Arsinoxyd-, weniger für die Arsenoverbindung. Die reduzierten Stoffe übten ferner, im Gegensatz zu den Arsinsäuren, bereits „in vitro" äußerst energische Wirkungen auf Parasiten aus, indem letztere abgetötet oder so beeinflußt wurden, daß sie keine Infektion mehr hervorriefen. Ganz entsprechend verliefen die Versuche „in vivo"; auch hier war gegenüber den Arsinsäuren eine wesentliche Steigerung der sterilisierenden Eigenschaft eingetreten! Dieser Parallelismus war eine mächtige Stütze für die Ehrlichsche Anschauung, daß die Wirkung der Arsinsäuren im Tierkörper, bei fehlender Beeinflussung der Parasiten in vitro, ausschließlich durch eine vorangehende, wenigstens partielle Reduktion zustande kommt. Da nun nach Ehrlich ein Pharmakon

[13a]) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., **XLVII** 271, **1914** [*294*].

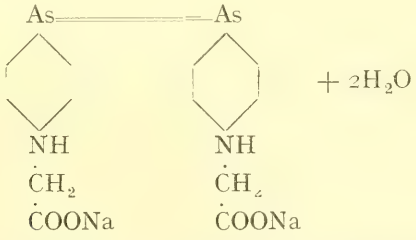
nur dadurch „wirkt", daß es „gebunden, fixiert" wird, so ergab sich der Satz: nur Radikale mit dreiwertigem Arsen werden von dem Arsenoceptor der Parasiten verankert. Diese Erkenntnis ist der Ausgangspunkt für die weitere synthetische Ausbildung der Arsentherapie geworden: es erschien zweckmäßig, dem Körper die Mühe der Reduktion abzunehmen und ihm das Heilmittel gleich in der wirksamen Form darzubieten. Damit erzielt man den weiteren Vorteil, daß eine viel sicherere Dosierung ermöglicht wird, indem die individuellen Schwankungen im Reduktionsvermögen der Organismen ausgeschaltet werden.

Der Heilstoff der Zukunft mußte also jedenfalls das Arsen in dreiwertiger Form an den Benzolkern gebunden enthalten. Welche anderen Substituenten aber waren einzuführen und welche Rolle hatten sie zu übernehmen? Wie war eine Auswahl zu treffen zwischen den zahlreichen Reduktionsprodukten, die im Laboratorium mit Hilfe der neu geschaffenen Methoden aus den früher erhaltenen Arsinsäuren bereitet wurden? Klar war höchstens, daß man eine Substanz suchen mußte, die mit großer Wirksamkeit relativ geringe Toxizität verbände, also „oben (d. h. am Arsen, durch Reduktion) giften, unten (durch Substituenten in *para*- usw. Stellung) entgiften"! Aber die theoretisch lichtvolle und praktisch fruchtbare Beantwortung obiger Probleme ist Ehrlich erst auf einem Umwege gelungen, mit Hilfe der arzneifesten Trypanosomenstämme. An dieser Stelle können nur die Resultate und Folgerungen kurz zusammengestellt werden. Es gelingt, einen Trypanosomenstamm derart zu festigen, daß er in vivo durch Atoxyl, Arsacetin und zahlreiche andere Arsenikalien nicht mehr beeinflußt wird. Der Arsenoceptor hat eine „Einziehung", eine „Verminderung seiner Avidität" erfahren. Ein solcher Stamm stellt nun gewissermaßen ein „therapeutisches Sieb (cribrum therapeuticum)" dar; denn wenn sich Stoffe fanden, die diesen Stamm noch abzutöten vermochten, so mußten sie einen neuen Heiltypus darstellen. Durch emsiges Suchen gelang es, solche Stoffe tatsächlich zu erhalten. Vorderhand waren es vornehmlich drei: das Arsenophenylglycin (I), die Arsenophenoxyessigsäure (II) und die Arsenophenylthioglykolsäure (III) (D.R.P. 206057, Chem. Centrbl. 1909, I, 963; D.R.P. 216270, Chem. Centrbl. 1909, II, 2105):



Alle diese Substanzen enthalten den Essigsäurerest. Ehrlich schließt daraus, daß an dem Trypanosomenprotoplasma außer dem Arsenoceptor noch andere Receptoren vorhanden sind, denen an dem Heilstoff (abgesehen vom Arsen) weitere „sekundäre Haptophore" entsprechen können; im vorliegenden Fall dem Aceticoceptor der Parasiten der Essigsäurerest der angeführten Verbindungen. Wenn nun auch der Arsenoceptor in seiner Avidität geschwächt ist, so wird das Arsenikale doch an denselben herangebracht, indem die Verankerung zunächst mittels des sekundären Haptophors am Aceticoceptor erfolgt. Der so genäherte Heilstoff vermag dann wieder seine Arsenwirkung auszuüben, gleichsam wird der erst am Rumpf aufgesteckte Schmetterling nun sukzessive an den Flügeln fixiert (Ehrlich[14])). Das Molekül des Heilstoffes war also, abgesehen vom dreiwertigen Arsen, mit weiteren, passenden, haptophoren Gruppen auszustatten, damit es den Krankheitserreger an mehreren Stellen gleich einer Beißzange anpacken konnte!

Solche haptophore Gruppen sind nun gefunden worden, und wir haben eine, den Essigsäurerest, schon kennen gelernt. Das damit ausgerüstete Arsenophenylglycin leistete tatsächlich im Tierversuch geradezu Ideales, indem es gelingt, einen mit Trypanosomen geradezu überschwemmten Organismus durch eine einzige Injektion zu sterilisieren und dauernd zu heilen. Die Bedeutung des Präparates brachte es mit sich, daß immer neue Mengen im Laboratorium dargestellt werden mußten, und so ergab sich auch eine umfassende chemische Bearbeitung. Der Hydrosulfitprozeß wurde von Bertheim genau studiert und die vorteilhaftesten Bedingungen für die Reduktion festgestellt, das Rohprodukt Reinigungsmethoden unterworfen, wodurch es insbesondere von seinem Schwefelgehalt befreit werden konnte. Um für die Injektion ein leicht wasserlösliches, neutrales Präparat zu haben, wurde die gereinigte Säure in das schön gelbe Natriumsalz



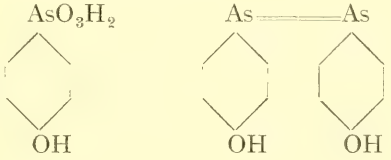

(gelegentlich auch „Spirarsen", „Spirarsyl" oder 418 nach der Präparatennummer im Journal genannt) übergeführt. Aber die Resultate waren trotz

[14]) Zeitschr. f. angew. Chem., **XXIII**, 5, **1910** [*112*].

aller Mühe nicht ganz gleichmäßig, namentlich zeigten die verschiedenen Operationsnummern nicht selten verschiedene Toxizität! Eingehendere Versuche in dieser Richtung ergaben, daß die Präparate beim Aufbewahren stets giftiger wurden. Eine tiefgreifende Zersetzung lag nicht vor, denn durch einfache Umfällung konnten solche „gealterten" Produkte größtenteils wieder entgiftet und regeneriert werden. Nun wurde oben schon erwähnt, daß die am Arsen reduzierten Verbindungen große Verwandtschaft zum Sauerstoff zeigen, andererseits hatten sich die Arsenoxydverbindungen noch stets als erheblich giftiger erwiesen als die Arsenoverbindungen: dies führte Ehrlich dazu, in der Erhöhung der Toxizität des Arsenophenylglycins eine Oxydation zur AsO-Verbindung zu vermuten. Daß es sich tatsächlich so verhält, konnte Bertheim beweisen durch die Abnahme des Reduktionsvermögens gegen Jodlösung beim Altern des Arsenophenylglycins. Durch Modifikation der Titriermethode konnte er weiter den Gehalt verschiedener Präparate an Arsinoxydverbindung feststellen. So enthielt eine Probe, die den Weg Frankfurt-Batavia hin und zurück gemacht hatte, 17,5% AsO-Verbindung! Ehrlich zog nun hieraus die logische Konsequenz, daß man, um zu einwandfreien, gleichartigen Produkten zu gelangen, schon bei der Darstellung und insbesondere der Trocknung unter Luftabschluß arbeiten und ferner das fertige Präparat unverzüglich in hochevakuierte Röhrchen einschmelzen müsse, um es unverändert zu konservieren. Diese Anforderungen waren recht schwer in die Praxis zu übersetzen. Wenn bis dahin einmal der Chemiker unter Luftabschluß gearbeitet hatte, so handelte es sich um Mengen von einigen Gramm; hier sollten dagegen Flüssigkeitsmengen von vielen Litern bewältigt und eine Ausbeute von ca. 1000 g erzielt werden! Das erforderte eine besondere, sehr komplizierte und teure Apparatur, um deren Schaffung und Ausbildung sich R. Kahn sehr verdient gemacht hat, und mit deren Hilfe er sich dann für längere Zeit der mühevollen Aufgabe unterzog, das Arsenophenylglycin herzustellen, es in Einzeldosen abwiegen und in Vakuumröhrchen abschmelzen zu lassen. Und die benötigten Mengen waren erheblich, denn Ehrlich war dazu übergegangen, das Präparat nun auch in der menschlichen Therapie probieren zu lassen. Hier leistete jedoch das Arsenophenylglycin weniger gute Dienste, als im Tierversuch; die Verhältnisse liegen eben beim Menschen weit komplizierter, und das Problem der Sterilisierung und Heilung wird durch viele störende Momente, wie spezifische Überempfindlichkeit, Degenerationsprozesse an lebenswichtigen Organen usw. außerordentlich erschwert (Ehrlich). Ein unschätzbarer Gewinn aber blieb die Summe von Erfahrungen, die bei der gründlichen Bearbeitung des Arsenophenylglycins

gesammelt worden waren, und die in Kürze soeben skizziert wurden. Ohne diese Grundlage hätte sich das Ziel, die planmäßige Synthese eines optimalen Heilstoffs, nicht erreichen lassen.

Um nun die weitere Entwicklung[15]) zu verstehen, muß man sich der glänzenden Fortschritte erinnern, die in der gleichen Zeit das Gebiet der Spirillenerkrankungen gemacht hatte. Metschnikoff und Roux hatten die Übertragbarkeit der Syphilis auf Affen gefunden, Schaudinn die Spirochaete pallida als Erreger der Syphilis entdeckt und die nahen Beziehungen zwischen Trypanosomen und Spirillen festgestellt. Damit war die Möglichkeit der chemotherapeutischen Bearbeitung gegeben, und es lag für Ehrlich nahe, die bei der Chemotherapie der Trypanosomen gewonnenen Erfahrungen auf das Gebiet der Spirillosen zu übertragen. Danach war als Achse, um welche auch die neuen Versuche gravitieren mußten, die Konzeption des Arsenozeptors gegeben, der auf den dreiwertigen Arsenrest eingestellt ist (vgl. Ehrlich[16])). Also auch die Spirillen waren mit am Arsen reduzierten Verbindungen zu bekämpfen; aber der günstigste sekundäre Haptophor mußte erst in langer, mühevoller Arbeit aufgesucht werden. Als Wegweiser diente die schon vor langer Zeit gemachte Beobachtung, daß 4-Oxyphenyl-arsinsäure (I) und ihr Reduktionsprodukt, das p-Arseno-phenol (II)



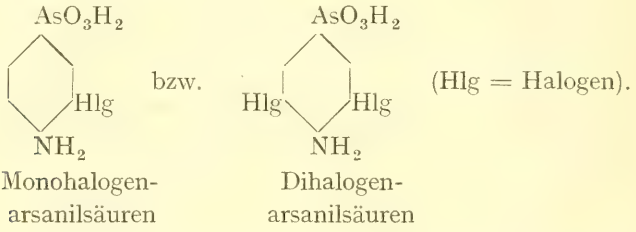

I II

bei Mäusespirillen eine gewisse günstige Beeinflussung auszuüben vermögen. Das Arsenophenol selbst konnte nicht in Frage kommen wegen seiner vielen Nachteile (l. c. [15], S. 123ff.); einmal ist es äußerst schwer, dasselbe in genügender Reinheit in größerem Maßstabe herzustellen, dann ist es aber auch außerordentlich giftig und unterliegt gar zu leicht der Oxydation, wobei das heftig entzündungserregende p-Oxyphenylarsinoxyd entsteht. Es galt also, in engster Fühlung mit den Tierversuchen, die Ehrlich mit Hata ausführte, die Atomgruppierung $OH.C_6H_4.As$ chemisch zu variieren. Und zwar erschien Ehrlich nach Erfahrungen, die er bei Farbstoffen gemacht, die Einführung

[15]) Vgl. Ehrlich-Hata, Chemotherapie der Spirillosen, S. 134, **1910** [*125*].
[16]) Zeitschr. f. Immunitätsforsch., II. Teil, Referate, **III**, 1149, **1911** [*137*].

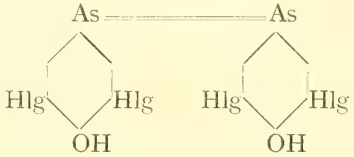
von Substituenten in *ortho*-Stellung zur Hydroxylgruppe als besonders aussichtsvoll.

Derartige Derivate ließen sich auf zweierlei Art synthetisieren. Entweder man bereitete zunächst, am bequemsten aus der Arsanilsäure durch Diazotieren und Verkochen, die Phenolarsinsäure und ging von dieser aus, oder man führte die Substituenten bereits ins Molekül der Arsanilsäure ein und ersetzte nachträglich die Aminogruppe durch Hydroxyl. So versuchte Bertheim zu halogenierten Phenolen zu gelangen, indem er zunächst halogenierte Arsanilsäuren herstellte[17]). Hier bestand die Schwierigkeit, daß die sonst recht beständige p-Aminophenylarsinsäure ihr Arsen ziemlich leicht gegen Halogen austauscht. Dennoch glückte es, halogenierte Arsanilsäuren darzustellen, indem entweder in wasserfreien Lösungsmitteln gearbeitet oder die Halogene in statu nascendi verwendet wurden. Die neuen Verbindungen besaßen die Konstitution:




Monohalogenarsanilsäuren — Dihalogenarsanilsäuren

Erstere zeigen noch die Ehrlich-Hertersche Reaktion (l. c. [7]) mit Naphtochinonsulfosäure, letztere hingegen nicht. Beide Klassen lassen sich diazotieren, es gelingt aber nicht, diese Diazoverbindungen zu den entsprechenden Phenolen zu verkochen. Wohl aber wurden die dihalogenierten Phenole erhalten durch direkte Halogenierung der p-Oxyphenylarsinsäure (D.R.P. 235430, Chem. Zentrbl. 1911, II, 172); die Abspaltung des Arsens konnte dabei vermieden oder doch zurückgedrängt werden, indem Jod in statu nascendi verwendet, die Chlorierung bzw. Bromierung aber mit Alkalihypohalogenit in alkalischer Lösung durchgeführt wurde. Natürlich stellte man nun aus den Arsinsäuren durch Reduktion die entsprechenden Tetrahalogenarsenophenole

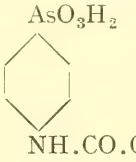



[17]) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., **XLIII**, 529, **1910** [*290*].

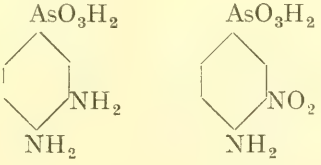
dar und erhielt damit interessante biologische Resultate. So zeigte gegenüber dem einfachen Arsenophenol das Tetrajodarsenophenol ein starkes Absinken der trypanoziden, aber starke Erhöhung der spirilloziden Funktion (l. c. [15], S. 124).

Der Halogenierung folgte als weiterer Schritt die Einführung der Nitrogruppe. p-Oxyphenylarsinsäure wird durch Salpeterschwefelsäure leicht nitriert. Durch passende Wahl der Bedingungen kann man nach Benda und Bertheim[18]) den Prozeß so leiten, daß entweder ausschließlich Mononitro- oder nur Dinitroprodukt entsteht. Aus der homologen Kresolarsinsäure wurde nur eine Mononitro-kresolarsinsäure erhalten.

Komplizierter verlief die Nitrierung der Arsanilsäure. Weder aus der freien noch aus der acetylierten Aminosäure war das Mononitroprodukt in glatter Reaktion zu erhalten. Vielmehr entsteht gleichzeitig, wie Benda[19]) gezeigt hat, noch Diazo-phenylarsinsäure und Dinitroarsanilsäure, letztere (neben etwas Trinitranilin) als Hauptprodukt, wenn man 2 Mol Nitriersäure bei 10—15° einwirken läßt. Um reine Mononitroarsanilsäure darzustellen, verschmilzt man nach Bertheim[20]) Arsanilsäure mit Oxalsäure, wobei Oxanil-arsinsäure




resultiert; diese läßt sich mit Salpeterschwefelsäure äußerst glatt in Mononitro-oxanilarsinsäure umwandeln, die ihrerseits leicht den Oxalsäurerest abspaltet und in Mononitro-arsanilsäure übergeht. Es gelang weiter, die Nitrogruppe zur Aminogruppe zu reduzieren und so eine Amino-arsanilsäure = Diamino-phenylarsinsäure zu erhalten. Letztere bildet mit salpetriger Säure eine Azimidoverbindung, mit Phosgen einen cyklischen Harnstoff, mit *ortho*-Diketonen Chinoxaline, d. h. sie verhält sich als typisches *ortho*-Diamin und besitzt daher die Konstitution (I):

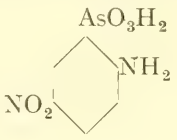



I II

[18]) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., **XLIV**, 3445, **1911** [*282*].
[19]) Ebenda, **XLV**, 53, **1912** [*280*].
[20]) Ebenda, **XLIV**, 3092, **1911** [*292*].

damit war gleichzeitig die ihr zugrunde liegende Nitro-arsanilsäure als 3-Nitro-4-amino-phenylarsinsäure (II) erkannt.

Eine isomere Nitro-amino-phenylarsinsäure hat Benda[21]) dargestellt, und zwar auf dem Wege der Arsenierung. Dieser Prozeß verläuft, wie früher erwähnt, bei Aminen mit besetzter *para*-Stellung sehr mangelhaft. Eine Ausnahme bildet jedoch das p-Nitranilin, das sich verhältnismäßig leicht arsenieren läßt. Für das Reaktionsprodukt hat Benda (vermittels des Ersatzes von Arsen durch Jod) die Konstitution




einer 5-Nitro-2-amino-phenylarsinsäure festgelegt. Durch Reduktion der Nitrogruppe erhielt er weiter die 2,5-Diamino- oder p-Phenylendiamin-arsinsäure[22]).

An dieser Stelle öffnen sich gewissermaßen einige interessante Seitentäler, denen ein kurzer Besuch abgestattet werden möge. Bereits im Jahre 1893 haben Michaelis und Loesner (Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. XXVII, 265, 1894) durch Nitrieren von Phenylarsinsäure eine Nitrophenylarsinsäure, $NO_2.C_6H_4.AsO_3H_2$, erhalten, ohne sie jedoch zur Aminosäure reduzieren oder die Stellung der Nitrogruppe ermitteln zu können. Der Reduktion stand die Tatsache im Wege, daß Reduktionsmittel im allgemeinen nicht allein die Nitrogruppe, sondern gleichzeitig auch den Arsensäurerest angriffen. Diese Schwierigkeit wurde von Bertheim[23]) überwunden, zunächst auf einem Umwege, indem er das bei der Reduktion mit Schwefelwasserstoff entstehende am Arsen geschwefelte Aminoprodukt durch geeignete Entschwefelung in die Amino-arsinsäure verwandelte. Die Reduktion gelang dann auch direkt, indem sich im Natriumamalgam ein Reagens fand, das unter bestimmten Bedingungen den Arsensäurerest unverändert läßt, dagegen die Nitrogruppe zur Aminogruppe reduziert. Es war dies das erste Beispiel der partiellen Reduktion einer Nitroarsinsäure zur Aminoarsinsäure*). Die erhaltene Aminophenylarsinsäure erwies sich als von der Arsanilsäure total verschieden, sie stellte ein Isomeres dar, der Lage der Sache nach die *ortho*-

*) Als weitere Beispiele folgten später die Reduktion der Nitroarsanilsäure zur Aminoarsanilsäure, der p-Nitranilinarsinsäure zur p-Phenylendiaminarsinsäure, vgl. oben.

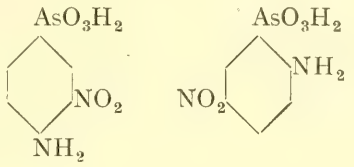
[21]) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., **XLIV**, 3293, **1911** [*275*].

[22]) Ebenda, **XLIV** 3300, **1911**, [*276*].

[23]) Ebenda, **XLI**, 1655, **1908** [*288*].

oder die *meta*-Verbindung, worüber sich zunächst keine Entscheidung treffen ließ.

Die Frage wurde jedoch endgültig beantwortet, nachdem die beiden Nitro-aminophenylarsinsäuren, Nitro-arsanilsäure (I) und p-Nitranilinarsinsäure (II)

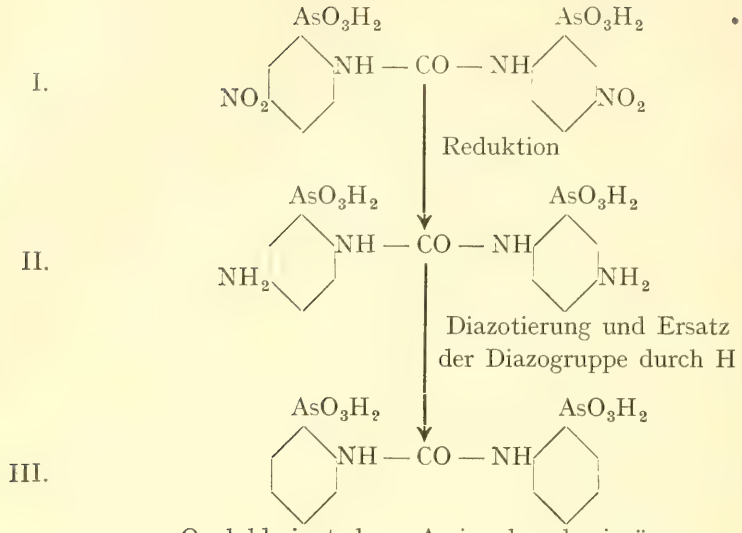



I II

dargestellt und in ihrer Konstitution festgelegt waren. Sowohl von der einen wie von der anderen dieser beiden Substanzen konnten Bertheim und Benda[24]) durch Ersatz der Aminogruppe gegen Wasserstoff zu unzweifelhafter *meta*-Nitrophenylarsinsäure gelangen, die durch Reduktion *meta*-Amino-phenylarsinsäure lieferte. Letztere erwies sich als identisch mit der früher aus Michaelisscher Nitrophenylarsinsäure dargestellten „isomeren Aminophenyl-arsinsäure". Damit war die Nitrosäure von Michaelis und die Bertheimsche Aminosäure als *meta*-Verbindung erkannt. Anhangsweise sei noch eine weitere Bildungsweise dieser Aminosäure erwähnt (l. c. [22]). Beim Diazotieren von p-Phenylendiamin-arsinsäure wird auffallenderweise zunächst die zum Arsenrest *ortho*-ständige Aminogruppe diazotiert. Ersetzt man jetzt den Diazorest durch Wasserstoff, so resultiert m-Aminophenylarsinsäure. Man scheidet dieselbe in Form eines Azofarbstoffes ab und spaltet denselben mit Hydrosulfit.

Die gründlichen Untersuchungen über die Nitro-aminophenylarsinsäuren führten schließlich auch zur Auffindung der dritten, noch fehlenden isomeren Aminophenyl-arsinsäure, der *ortho*-Verbindung. Aus seiner p-Nitranilin-arsinsäure gewann Benda[25]) zunächst das Oxalylderivat (I), daraus durch Reduktion die entsprechende Aminoverbindung (II); diese lieferte durch Eliminierung der Aminogruppen das Oxalylderivat der o-Aminophenylarsinsäure (III), welches durch Entacylierung in die Säure selbst überging. Von den Isomeren unterscheidet sich die *ortho*-Verbindung insbesondere durch weit größere Löslichkeit in Wasser, niedrigeren Schmelzpunkt, geringere Haftfestigkeit des Arsen-

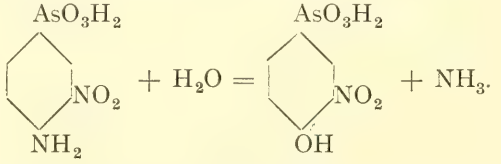
[24]) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., **XLIV**, 3297, **1911** [*275*].
[25]) Ebenda, **XLIV**, 3304, **1911** [*277*].




Oxalylderivat der o-Aminophenylarsinsäure.

säurerestes und höhere Toxizität; beweisend für die Konstitution ist wieder die hier besonders leicht erfolgende, glatte Überführung in *ortho*-Jodanilin.

Kehren wir jedoch nach dieser Abschweifung zur Hauptroute, den Derivaten der p-Oxyphenylarsinsäure zurück! Hier gewann, wie wir gleich sehen werden, die Mononitro-oxyphenylarsinsäure als Ausgangsmaterial alsbald größte Bedeutung. Es war daher sehr wesentlich, daß Benda[26]) für die Substanz eine neue, technisch durchführbare Darstellungsmethode auffand. Er erhitzte die 3-Nitro-4-aminophenyl-arsinsäure (Nitro-arsanilsäure, vgl. oben) mit Alkalien, wobei die Aminogruppe in Form von Ammoniak abgespalten und durch Hydroxyl ersetzt wurde*):



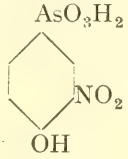

*) Die in dieser Reaktion zu Tage tretende Beweglichkeit der Aminogruppe ist ein weiterer Beweis dafür, daß die Nitrogruppe in *ortho*-Stellung zur Aminogruppe, d. h. in *meta*-Stellung zum Arsensäurerest, sich befindet. Ein analoges Verhalten zeigt nach Karrer[27]) die durch Nitrieren von Dimethylarsanilsäure erhaltene 3-Nitro-4-dimethylamino-phenylarsinsäure. Diese geht beim Erwärmen mit Alkalilauge unter Abspaltung von Dimethylanilin ebenfalls in 3-Nitro-4-oxy-phenylarsinsäure über:

$(CH_3)_2N.C_6H_3(NO_2)AsO_3H_2 + H_2O = OH.C_6H_3(NO_2)AsO_3H_2 + (CH_3)_2NH.$

[26]) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., **XLIV**, 3449, **1911** [*278*].

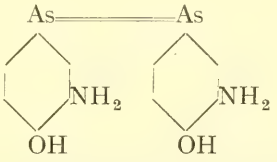
[27]) Ebenda, **XLVI**, 515, **1913** [*385*].

Das Reaktionsprodukt war identisch mit der früher durch Mononitrieren der Phenolarsinsäure erhaltenen Nitrophenolarsinsäure, so daß also letztere die 3-Nitro-4-oxy-phenyl-arsinsäure

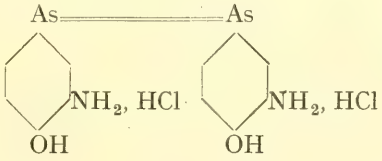



darstellt.

Die Nitrogruppe gehört zu den „dystherapeutischen" Gruppen; vorteilhaft dagegen wirkt die Aminogruppe, wie schon das Beispiel des Atoxyls gelehrt hatte. Da außerdem für einen eventuellen Heilstoff nur dreiwertiges Arsen in Frage kommen konnte, mußte die Nitrophenolarsinsäure einer durchgreifenden Reduktion unterworfen werden. Als Ehrlich und Bertheim[28]) zu diesem Ende Natriumhydrosulfit in starkem Überschuß bei ca. 55—60° einwirken ließen, wurde sowohl der Arsensäurerest zur Arseno- als auch die Nitrogruppe zur Aminogruppe reduziert, so daß also 3,3'-Diamino-4,4'-dioxy-arsenobenzol




entstand (Mai 1909). Das Rohprodukt bildet ein hellgelbes, mikrokristallinisches Pulver, unlöslich in Wasser, leicht löslich in wässriger Salzsäure, sowie Alkalilauge, schwer löslich in Soda. Die biologischen Versuche mit dieser Substanz, Nr. 592 unseres Laboratoriumjournals, gestalteten sich bald so aussichtsvoll, daß eine weitere chemische Bearbeitung geboten war. Eine Reihe von Versuchen wurden angestellt, den Körper, der noch Asche (insbesondere Calciumsalze), schweflige Säure und geringe Mengen geschwefelter Substanzen enthielt, zu reinigen und in eine für die biologische Anwendung passendere Form zu bringen. Beides ließ sich annähernd erreichen, indem man die Rohbase in ihr Dichlorhydrat, das salzsaure Diamino-dioxy-arsenobenzol




[28]) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., **XLV**, 756, **1912** [*168*].

überführte. Dieses Präparat zeigte infolge seiner größeren Reinheit eine geringere Toxizität. Es bildet ein hellgelbes mikrokristallinisches Pulver, leicht löslich in Wasser, Methylalkohol, Äthylenglycol, Glyzerin, wenig löslich in Äthylalkohol, sehr wenig in Eisessig, Aceton, Äther, konzentrierter Salzsäure. Die gelbe wässrige Lösung reagiert sauer auf Lackmus. Fügt man tropfenweise Natronlauge zu, so entsteht zunächst kein Niederschlag; die Fällung beginnt erst, nachdem auf 1 Mol des Dichlorhydrats ca. 1 Mol NaOH verbraucht ist. Fährt man jetzt mit dem Alkalizusatz fort, so ist beim Verbrauch von 2 Mol Natronlauge das ganze freie Diamino-dioxy-arsenobenzol ausgefällt bei neutraler Reaktion der Flüssigkeit. Mit mehr Alkali geht der Niederschlag wieder klar als Alkaliphenolat in Lösung. Hat man gerade soviel Alkali angewandt, als hinreicht, um die Flüssigkeit wieder vollständig zu klären, so reagiert eine solche Phenolatlösung mäßig alkalisch und wird in dieser Form zu Injektionen benutzt, nachdem die saure Lösung sowie die neutrale Suspension sich nicht bewährt haben. In Wasser unlöslich ist das schwefelsaure Diamino-dioxy-arsenobenzol; daher geben selbst verdünnte Lösungen des Chlorhydrats mit Schwefelsäure oder Sulfaten einen Niederschlag. Um Diamino-dioxy-arsenobenzol nachzuweisen, beispielsweise in Körpergeweben, kann man sich seiner Eigenschaft bedienen, mit p-Dimethylamidobenzaldehyd bei Gegenwart von Salzsäure ein orangefarbenes Kondensationsprodukt zu geben; durch Zusatz von Sublimat läßt sich diese Reaktion noch verschärfen.

Immer klarer ergab die biologische Untersuchung, worauf hier nicht näher eingegangen werden kann, daß in dem salzsauren Diamino-dioxy-arsenobenzol ein hervorragender Heilstoff gefunden war. Es war bis dahin ein langer und schwerer Aufstieg gewesen; trug doch das neue Präparat im Journal die hohe Laboratoriumsnummer „606", d. h. es hatten vom Arsenophenylglycin (= 418) fast 200 Etappen durchlaufen werden müssen, ehe mit der Einführung der Aminogruppe ins Molekül des Arsenophenols, und zwar in *ortho*-Stellung zum Phenolhydroxyl, ein „eutherapeutisches Maximum" erreicht wurde. — Doch nun erhob sich eine neue und sehr bedeutende Schwierigkeit: die klinische Erprobung des Mittels. Diese erforderte erhebliche Mengen einwandfreien Präparats; da andererseits die Einrichtungen der Höchster Farbwerke als Eigentümer der Patente auf dem Arsengebiet damals noch nicht genügend weit vorgeschritten waren, mußte während vieler Monate das gesamte an Kliniken und Ärzte abzugebende Material im Georg Speyer-Hause hergestellt werden (1910). Das war keine leichte Aufgabe. An und für sich ist schon ein wissenschaftliches Laboratorium für einen Fabrikbetrieb, auch wenn derselbe sich in sehr mäßigen Grenzen hält, wenig geeignet. Hier mußte nun aber noch,

nach den beim Arsenophenylglycin gemachten Erfahrungen, das Auflösen der Rohbase in Salzsäure, die Filtration der erhaltenen Lösung, die Ausfällung und Isolierung des Chlorhydrats unter Luftabschluß bzw. im indifferenten Gasstrom vor sich gehen, das Präparat cautissime getrocknet und hinterher sofort in Vakuumröhren eingeschmolzen werden; auch waren sehr große Flüssigkeitsquanten, insbesondere solche des feuergefährlichen Äthers zu bewältigen. Doch die Großzügigkeit Ehrlichs, der bei solchen Gelegenheiten stets aus dem vollen wirtschaftet, half der Schwierigkeit Herr zu werden. So erhielt Verf. damals zu seiner Unterstützung elf Hilfskräfte; vier wurden zur eigentlichen Herstellung des Präparates*) einschließlich der Pflege der Apparatur benötigt, zwei hatten die zahllosen Einzeldosen abzuwägen und mit Unterstützung zweier weiterer Personen in die Ampullen einzufüllen, während zwei Glasbläser letztere unter hohem Vakuum zuschmelzen mußten. Endlich hatte ein Mann mit der Verpackung und der Versendung ausgiebig zu tun. So gelang es, pro Woche ein Quantum von ca. 800—900 g herzustellen; an so manchem Tag wurden ferner gegen 700 Ampullen eingewogen und abgeschmolzen und etwa 30 Pakete in die Welt gesandt. Im weiteren Verlaufe des Jahres 1910 traten dann die Höchster Farbwerke mit ihren großartigen Mitteln und Einrichtungen und hervorragenden Kräften auf den Plan und übernahmen die Herstellung des Präparats, das sie nach Abschluß der Probezeit und erfolgter Freigabe im Dezember unter der geschützten Marke „Salvarsan" in den Handel brachten.

Jede neue Operationsnummer des Salvarsans wurde und wird noch heute im Georg Speyer-Hause biologisch-toxikologisch untersucht. Eine rein chemische Prüfung ist nicht ausreichend. Bereits ganz minimale Beimengungen oder Veränderungen, wie solche chemisch kaum nachzuweisen wären, können die Wirkung des Mittels erheblich beeinflussen. Scharf zeigt sich das in den unangenehmen Nebenerscheinungen, die nach Salvarsan eintreten können, wenn man zur Injektion nicht völlig einwandfreies Wasser verwendet („Wasserfehler")[29][30]). Hierauf hatte zuerst Wechselmann aufmerksam gemacht. Einschlägige Versuche im Speyer-Hause von Gonder[31]), sowie W. und N. Yakimoff[32][33]) zeigten dann in der Tat, daß die Gegenwart von gewissen

*) Das Ausgangsmaterial, die Nitrophenolarsinsäure, wurde alsbald von den Höchster Farbwerken geliefert.

[29]) Vgl. Ehrlich, Münch. med. Wochenschr., S. 2481, **1911** [*138*].

[30]) Zeitschr. f. Chemotherapie, I. Teil, **I**, S. 1 ff., **1912** [*145*].

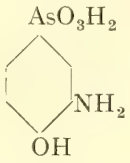
[31]) Arch. f. Schiffs- u. Tropenhygiene, **XVI**, 37, **1912** [*352*].

[32]) Münch. med. Wochenschr., H. 49, **1911** [*606*].

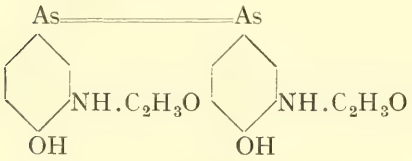
[33]) Ebenda, H. 3, **1912** [*607*].

Chemikalien wie Calciumsalzen, ferner von Bakterien und deren Endotoxinen eine Erhöhung der Toxizität des Salvarsans bewirkt.

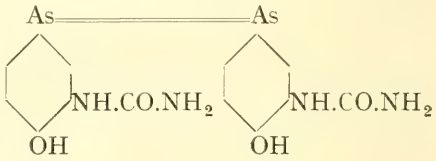
Ein weiterer Feind des Salvarsans ist der Sauerstoff, was in der Natur des Präparates als einer Arsenoverbindung begründet ist. Setzt man es der Luft aus, so enthält es alsbald Arsinoxydverbindung beigemischt und die Toxizität beginnt zu steigen; besonders empfindlich sind die alkalischen Lösungen der Substanz. Es war nun von großem Interesse, die Oxydationsprodukte des Salvarsans in reiner Form kennen zu lernen (l. c. [28]). Läßt man Wasserstoffsuperoxyd in alkalischer Lösung einwirken, bei Vermeidung eines Überschusses an Reagens, so wird die Arsenoverbindung zur Arsinsäure oxydiert, es entsteht 3-Amino-4-oxy-phenylarsinsäure




Bequemer konnte diese Verbindung durch „partielle Reduktion" der Nitrophenolarsinsäure gewonnen werden. Die Aminosäure stellt ein gutes Ausgangsmaterial dar, um zu gewissen Derivaten des Salvarsans zu gelangen. Nicht selten ist es nämlich vorteilhaft, anstatt von der allzu reaktionsfähigen Arsenoverbindung auszugehen, die Eingriffe, wie Acylierung, Harnstoffbildung usw. an der kristallisierenden Amino-arsinsäure vorzunehmen und dann nachträglich zur Arsenoverbindung zu reduzieren. Derart wurden z. B. das Acetylprodukt (I) und der Harnstoff (II) des Diamino-dioxy-arsenobenzols

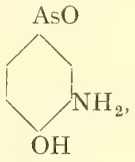



I



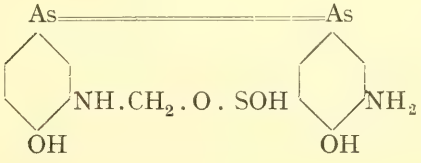

II

dargestellt (l. c. [15], S. 36). Endlich ließ sich aus der Aminosäure durch gelinde Reduktion auch die Zwischenstufe zwischen Arsinsäure und Arsenoverbindung erhalten, nämlich das 3-Amino-4-oxy-phenylarsinoxyd (l. c. [28]),




also jene Substanz, die sich aus Salvarsan durch Zutritt des Luftsauerstoffs, mithin bei unvorsichtiger Handhabung, bildet. Der früher aufgefundenen Gesetzmäßigkeit entsprechend ist das Arsinoxyd erheblich giftiger als die Arsinsäure sowie auch als die Arsenoverbindung; gleich letzterer enthält es das Arsen im dreiwertigen Zustand und besitzt deshalb ebenfalls, im Gegensatz zur Arsinsäure, erhebliche Wirkung auf Spirillen, wenn es sich auch im Heilversuch weniger günstig stellt als die Arsenoverbindung, das Salvarsan (l. c. [15], S. 121).

Die Handhabung des neuen Heilmittels ist für den praktischen Arzt keine ganz einfache. Zur Bereitung der Injektionsflüssigkeit muß man zunächst das Handelspräparat in Wasser lösen, darauf durch Zusatz einer passenden Alkalimenge die Umwandlung ins Alkaliphenolat bewirken; auch reagiert diese Phenolatlösung alkalisch. Es sind daher zahlreiche Versuche gemacht worden, das Salvarsan in eine in Wasser leicht und mit neutraler Reaktion lösliche Form überzuführen, in der es also mit Wasser direkt eine fertige, geeignete Injektionsflüssigkeit ergeben sollte. Ehrlich[34]) selbst ist eine Lösung dieser Aufgabe gelungen. Er wollte, wie es für andere, leicht oxydable Stoffe, z. B. Leukoverbindungen, photographische Entwickler geschieht, die Haltbarkeit von Salvarsanlösungen erhöhen, indem er sie mittels sauerstoffgieriger Zusätze vor Oxydation zu schützen suchte. Dabei griff er unter anderem zu dem neuerdings in der Technik unter verschiedenen Namen erzeugten und verwandten Formaldehydsulfoxylat und stellte fest, daß dasselbe sich mit dem Salvarsan sehr leicht vereinigt; das Kondensationsprodukt besitzt wahrscheinlich die Konstitution:

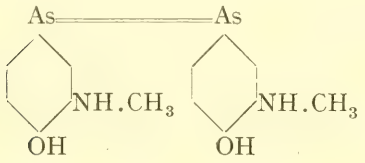



und ist infolge der Anwesenheit der Sulfoxylgruppe befähigt, ein neutral reagierendes Natriumsalz zu bilden, das sich in Wasser leicht

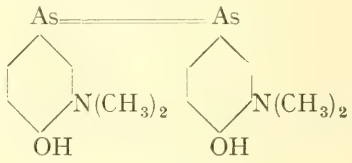
[34]) Chem. Ztg., 637, **1912** [*146*].

löst. Da letzteres im übrigen in seinen biologischen Eigenschaften, insbesondere Wirksamkeit und Unschädlichkeit, weitgehend mit Salvarsan übereinstimmt, wurde es als ein bequemer zu handhabendes Präparat ebenfalls in die Therapie eingeführt; es trägt den Namen „Neosalvarsan" und wird auch von den Höchster Farbwerken hergestellt.

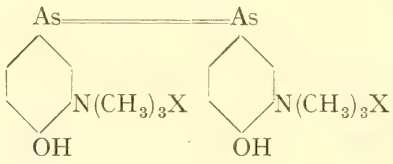
Die Auffindung des Salvarsans als eines wirksamen Heilmittels bedeutet einen gewissen Abschluß der chemotherapeutischen Studien auf dem Arsengebiet. Doch auch hier bewahrheitet sich das Wort Goethes von dem aufgelösten Problem, das immer wieder ein neu aufzulösendes darbietet. So hat die Forschung auf dem erreichten Gipfel nicht geruht, sondern sich bestrebt, auch die in näherer und größerer Entfernung befindlichen Höhen zu erschließen. — Durch sukzessive Methylierung der 3-Amino-4-oxy-phenylarsinsäure und Reduktion der erhaltenen Arsinsäuren zu den Arsenoverbindungen erhielt Bertheim[35]) die methylierten Diamino-dioxy-arsenobenzole I, II und III




I




II



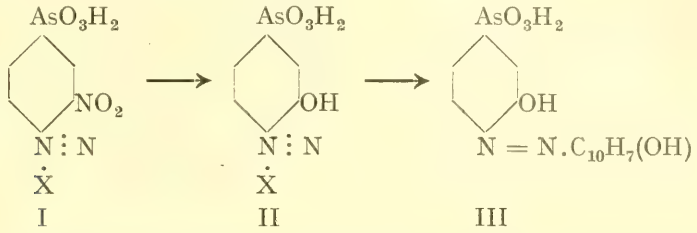

III

Diese unterscheiden sich von der nicht methylierten Verbindung, dem Salvarsan, durch stark gesteigerte Toxizität und bedeutend verschlechterte Heilwirkung. Damit war also ein neues Beispiel für die dystherapeutischen Eigenschaften der Methylgruppe gewonnen.

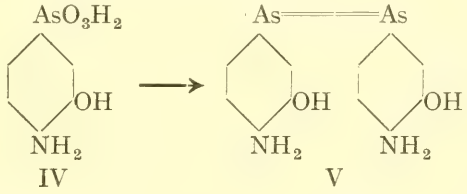
Die Darstellung desjenigen isomeren Diamino-dioxy-arsenobenzols, bei dem im Vergleich mit Salvarsan Aminogruppe und Hydroxylgruppe gegenseitig die Plätze gewechselt haben, ist Benda[36]) gelungen. Diazotierte Nitroarsanilsäure (I) tauscht mit mineralsäurebindenden Mitteln die Nitrogruppe gegen Hydroxyl aus, so daß 3-Oxy-4-diazophenyl-

[35]) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., **XLV**, 2130, **1912** [*293*].
[36]) Ebenda, **XLIV**, 3578, **1911** [*279*].

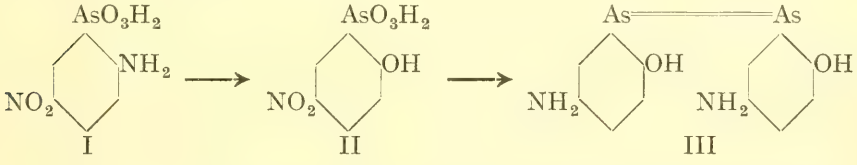
arsinsäure (II) entsteht, die man als Azofarbstoff (III) beispielsweise durch Kuppeln mit $\beta$-Naphtol isoliert:




Bei der reduzierenden Spaltung liefert der Azofarbstoff, neben Aminonaphtol, 3-Oxy-4-amino-phenylarsinsäure (IV), die als solche abgeschieden oder auch gleich zum 3,3'-Dioxy-4,4'-diamino-arsenobenzol (V) weiter reduziert werden kann:



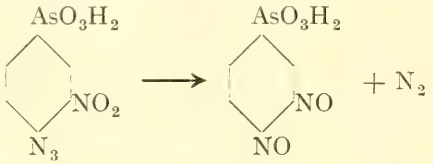

Ein drittes Isomeres, bei dem jedoch Hydroxyl- und Aminogruppe in *para*-Stellung zueinander stehen, wurde von Benda (l. c. [21]) aus der p-Nitranilinarsinsäure (I) erhalten. Diese geht durch Erhitzen mit Alkalilauge zunächst in p-Nitrophenol-arsinsäure (II) über, welche dann bei durchgreifender Reduktion 2,2'-Dioxy-5,5'-diamino-arsenobenzol (III) liefert:




Neue Wege der Synthese beschritt Karrer. Aus Arsanilsäure gewann er mittels Sulfomonopersäure p-Nitroso-phenyl-arsinsäure[37]), $NO.C_6H_4.AsO_3H_2$. Die neue Verbindung kondensiert sich mit Aminen, Aminoarsinsäuren zu Azokörpern, mit Hydroxylamin zum Antidiazotat, das seinerseits mit Azokomponenten zu arsenhaltigen Azofarbstoffen kuppelt[38]). Die Diazoarylarsinsäuren konnten von Karrer[39]) mit Hilfe

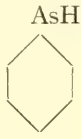
[37]) Ebenda, **XLV**, 2065, **1912** [*382*].
[38]) Ebenda, **XLV**, 2359, **1912** [*383*].
[39]) Ebenda, **XLVI**, 249, **1913** [*384*].

von Natriumazid in Diazoimid-arylarsinsäuren übergeführt werden. Die Umwandlung der letzteren in die biologisch wichtigen Aminophenole gelang zwar nicht, dagegen ließ sich die Reaktion von Zincke und Schwarz — Übergang ortho-nitrierter Diazoimide beim Erhitzen in o-Dinitrosoverbindungen — auch in der Arsenreihe verwirklichen. So entstand z. B. aus 3-Nitro-4-diazimid-phenylarsinsäure die 3,4-Dinitroso-phenylarsinsäure




Derartige Dinitrosokörper zeigen interessante Kondensationsfähigkeit, was Karrer benutzte, um zu arsenhaltigen Phenazinfarbstoffen zu gelangen. Eine weitere Arbeit ist der p-Jodoso- und p-Jodophenylarsinsäure gewidmet[39a]).

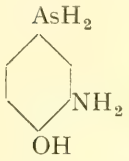
Einen sehr wichtigen Fortschritt in der Kenntnis der am Arsen reduzierten Substanzen bedeuten die Arbeiten von Kahn[40]). Bisher waren durch Reduktion stets Körper erhalten worden, die der Klasse der Arsenoxyd- bzw. der Arsenoverbindungen angehörten. Kahn fand nun, daß man — durch Anwendung von naszierendem Wasserstoff in saurer Lösung — die Reduktion noch über die Arsenostufe hinaustreiben kann; man gelangt so zu einem neuen Typus reduzierter Arsenverbindungen, nämlich den substituierten Arsinen, als deren Muttersubstanz das von Palmer und Dehn (Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. XXXIV, 3598, 1901) bereits dargestellte Phenylarsin




erscheint. Diese Substanzen sind nun noch viel leichter oxydabel als die Arsenoverbindungen und es bedarf zu ihrer Herstellung einer raffinierten Technik und Apparatur. Abgesehen von der großen Verwandtschaft zum Sauerstoff sind indes solche Arsine, welche salzbildende Gruppen im Molekül aufweisen, verhältnismäßig beständig und nicht allzu giftig; auch besitzen sie, insbesondere das dem Salvarsan entsprechende 3-Amino-4-oxy-phenylarsin

[39a]) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., **XLVII**, 96, **1914** [*386*].

[40]) Chem. Ztg., 1099, **1912**. Vgl. auch D. R. P. 251571. Chem. Zentralbl., **1912**, **II**, 1415 [*380*].




entsprechend der Dreiwertigkeit des Arsens, eine erhebliche therapeutische Wirkung, z. B. bei trypanosomen-infizierten Tieren. Die wichtigste und vorläufig wertvollste Eigenschaft der Arsine liegt jedoch auf chemischem Gebiet und besteht in der Kondensationsfähigkeit dieser Körper. So vermögen die Arsine sich mit Halogenarsinen oder Arsinoxyden zu Arsenoverbindungen zu vereinigen (l. c. [40]):

$$RAsH_2 + Cl_2AsR = RAs{:}AsR + 2HCl, \text{ bzw.}$$
$$RAsH_2 + OAsR = RAs{:}AsR + H_2O.$$

Damit war für die bisher ausschließlich auf dem Wege der Reduktion zu erhaltenden Arsenoverbindungen eine neue Bildungsweise gefunden, die gleich weiter zu einem interessanten Ausbau dieser Klasse benutzt werden konnte. Läßt man nämlich ein Arsin auf ein Arsinoxyd (Halogenarsin) mit anders geartetem Kohlenwasserstoffrest einwirken, so gelangt man zu einer unsymmetrischen Arsenoverbindung*), wie solche vorher nicht bekannt waren:

$$RAsH_2 + OAsR' = RAs{:}AsR' + H_2O.$$

Die Tatsache, daß derartige Körper existieren, und die Notwendigkeit, ihre biologischen Eigenschaften festzustellen, machten es wünschenswert, für ihre Bereitung eine bequemere, von der Darstellung des Arsins unabhängige Methode ausfindig zu machen. Dies gelang Ehrlich und Bertheim (D.R.P. 251104, Chem. Centrbl. 1912, II, 1414), indem sie ein molekulares Gemisch zweier verschiedener Arsinsäuren oder Arsinoxyde oder auch einer Arsinsäure mit einem Arsinoxyd der Reduktion unterwarfen; während man unter diesen Verhältnissen theoretisch die Bildung von drei verschiedenen Arsenoverbindungen (zwei symmetrischen und einer unsymmetrischen, nämlich RAs:AsR, R'As:AsR', RAs:AsR') erwarten sollte, entsteht in Wirklichkeit nur die unsymmetrische Verbindung:

*) Auch mit Stibinoxyden, Stibindichloriden, Antimon- und Wirmuttrichlorid lassen sich nach Ehrlich und Karrer[41]) die Arsine kondensieren, wobei Arseno-stibino- bzw. Arseno-bismuto-Verbindungen erhalten werden, z. B.

$$Aryl \cdot AsH_2 + Cl_2 \cdot SbAryl = ArylAs{:}SbAryl + 2HCl$$
$$Aryl \cdot AsH_2 + Cl_2BiCl = ArylAs{:}BiCl + 2HCl.$$

[41]) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. **XLVI**, 3564, **1913** [*183*].

$$R_3AsO_3H_2 + R'AsO_3H_2 + 4H_2 \rightarrow RAs:AsR' + 6H_2O$$
$$RAsO + R'AsO + 2H_2 \rightarrow RAs:AsR' + 2H_2O$$
$$RAsO_3H_2 + R'AsO + 3H_2 \rightarrow RAs:AsR' + 4H_2O.$$

Solche und so manche andere interessante Resultate wird man sicherlich noch weiter auf dem Arsengebiet erzielen, insbesondere wenn man sich nicht mehr mit der bloßen Synthese begnügt, sondern auch die Methoden anorganisch-physikalischer Forschung heranzieht. Den Anfang hat Ehrlich bereits gemacht. Von der biologischen Erwägung ausgehend, den Krankheitserreger möglichst an mehreren Stellen anzugreifen und zu diesem Ende den „Giftpfeil" mit mehreren verschiedenartigen Giften zu beladen, mischte er Lösungen von Metallsalzen mit solchen von Arsenoverbindungen und fand in Gemeinschaft mit Karrer, daß dabei Verbindungen wahrscheinlich komplexer Natur entstehen (D.R.P. 268220/221 der Höchster Farbwerke). Hier öffnet sich also wieder ein weites Feld, von dem man sowohl chemisch als biologisch noch hören dürfte.

Damit wären wir bei den jüngsten und letzten Forschungen Ehrlichs auf dem Arsengebiet und also am natürlichen Schlusse unserer Ausführungen angelangt. Sie sollten keine möglichst vollständige Darstellung*) des gesamten chemischen Materials bezwecken, sondern vielmehr ein Bild der glänzenden Entwicklung geben, die unter Führung des Meisters die organischen Arsenverbindungen genommen haben. Bis vor kurzem noch in ihrem Winkel des großen „Beilstein", in eine Art Dornröschenschlummer versunken, stehen diese Stoffe heute im Brennpunkt chemischen, chemisch-technischen, medizinischen, ja allgemeinen Interesses. Wenn irgendeines, so lehrt dieses Beispiel, wie überaus fruchtbar das Zusammenarbeiten von Biologie und Chemie sich gestalten kann.

*) Eine solche findet man in Bertheim, Handbuch der organischen Arsenverbindungen, Stuttgart 1913, Verlag von Ferdinand Enke; darin ist auch die ältere, chemische, sowie die Patentliteratur weitgehend berücksichtigt.

4.

# Konstitution, Distribution und Wirkung.

Von

**M. Jacoby,**
Berlin.

Von welchem Gesichtspunkte man auch das bisherige Lebenswerk Paul Ehrlichs betrachtet, immer wieder erkennt man, daß seine Fragestellung und zugleich seine Methodik durch die Überzeugung geleitet wird, daß die Biologie gewaltige Fortschritte durch eine möglichst umfassende Auswertung der organischen Chemie erzielen kann. Wenige Biologen sind sich so intuitiv wie Ehrlich darüber klar geworden, daß es für die Brauchbarkeit einer biologischen Analyse der beste Prüfstein ist, ob wir durch jede Einzeluntersuchung etwas, wenn auch im weitesten Sinne, über die Beziehungen zwischen Konstitution und biologischer Wirkung erfahren. Ehrlich hat bei dieser Richtung seines Denkens und Arbeitens sich naturgemäß schon frühzeitig für pharmakologische Probleme interessiert und die pharmakologische Wissenschaft durch wichtige Tatsachen und grundlegende Ideen bereichert. Wenn die Fachpharmakologen erst in den letzten Jahren mehr auf Ehrlichs Anschauungen eingehen und man erst in den nächsten Jahrzehnten seinen Einfluß auf die Entwicklung der Arzneiwissenschaft in vollem Maße spüren wird, so liegt das wohl neben anderen mehr äußeren Gründen daran, daß die von Buchheim und Schmiedeberg so vortrefflich organisierte Wissenschaft sich ein sehr ergiebiges Forschungsgebiet geschaffen hatte, das sich auf die Experimentalphysiologie, insbesondere auf die Methodik Carl Ludwigs, des großen Lehrmeisters der deutschen Physiologenschule stützte. Erst mußten die hier reichlich fließenden Quellen einigermaßen ausgeschöpft sein, ehe sich das Verlangen nach neuen Erkenntnisadern einstellen konnte.

Wie die meisten ja vielleicht alle Untersuchungen Ehrlichs in innerem Zusammenhange miteinander stehen und einheitliche Ziele verfolgen, so waren auch schon seine mannigfachen Farbstudien, die den pharmakologischen Arbeiten vorausgingen, ihnen in der Fragestellung und der Methodik nahe verwandt. Um aber in diesem Abschnitte nicht Dinge zu besprechen, die in anderen Teilen der Festschrift eingehend erörtert werden, werde ich hier nur auf die Untersuchungen Ehrlichs eingehen, welche Ehrlich selbst als seine eigentlichen Studien zur allgemeinen Pharmakologie im engeren Sinne betrachtet. Die Verteilung, d. h. die elektive Verwandschaft einer Substanz zu bestimmten Organen und Systemen ist nach Ehrlich eine Funktion seiner chemischen Konstitution. Zum Nachweis dieses Gesetzes eignen sich einerseits Körper, die, wie die Farbstoffe, an und für sich leicht erkennbar sind und andererseits solche, welche, wie Cocain, Cumarin, Vinylamin, Paraphenylendiamin, eigenartige und spezifische Organveränderungen hervorrufen.

Wem die historische Entwicklung der Wissenschaft nicht bekannt ist, könnte vermuten, daß diese Anschauung Ehrlichs im direkten Gegensatz zu der Ansicht derjenigen modernen Forscher steht, welche auf die physikalischen Eigenschaften der Substanzen den Hauptwert legen. Aber das ist nicht der Fall. Ehrlich hat die Bedeutung der physikalischen Beschaffenheit nie verkannt und bereits in seiner Monographie über das Sauerstoffbedürfnis (1885) von dieser Erkenntnis ausgiebigen Gebrauch gemacht.

Vielleicht als die erste Arbeit Ehrlichs, die auf das Problem der Verteilung körperfremder Substanzen im Organismus Bezug hat, darf die Untersuchung über provozierte Fluoreszenzerscheinungen am Auge angesehen werden[1]). Ehrlich verfolgte in dieser Studie, deren jugendlich-frischer Stil doch schon an jeder Stelle das reife Urteil des über der Sache stehenden Experimentators erkennen läßt, den Weg, auf welchem das Kammerwasser nach der Parazentese ersetzt wird. Fluoreszein wurde subkutan injiziert und dann durch direkte Beobachtung festgestellt, wie die Flüssigkeit, die durch den intensiv fluoreszierenden Farbstoff leicht erkennbar war, in die vordere Augenkammer dringt. Während normalerweise am Auge nach Fluoreszeininjektion nur das Aufblitzen einer senkrechten hellgrünen Linie, der sog. „Ehrlichschen Linie", zu bemerken ist, zeigte sich, daß zwischen der normalen Sekretion des Kammerwassers und der Regeneration

[1]) Deutsche med. Wochenschr., H. 2—4, **1882** [*12*].

nach Parazentese ein fundamentaler Unterschied besteht, indem nach der Parazentese durch Funktion der Ciliarfortsätze das Sekret der hinteren Kammer in die vordere übertritt, was nach Fluoreszeininjektion durch den Übergang des Farbstoffes zur Beobachtung kommt. Ehrlichs Befunde sind in interessanten Untersuchungen von C. Hamburger (Zentralbl. f. prakt. Augenheilkunde 1898, Deutsche med. Wochenschr. 1899, Verhandl. der Physiol. Gesellschaft 1898 und 1900, Berl. klin. Wochschr. Nr. 30, 1905) durchaus bestätigt und für die Behandlung von Fragen der menschlichen Ophthalmologie herangezogen worden. Hamburger zeigte, daß man das Fluoreszein auch direkt mit einer Spritze in die hintere Augenkammer von außen bringen kann, ohne daß es ohne weiteres in die vordere Kammer gelangt. Aus den Darlegungen Hamburgers geht hervor, daß die Beobachtungen Ehrlichs für die Klärung ophthalmologischer Probleme nach verschiedenen Richtungen anregend gewirkt haben und besonders für die Frage der intraokularen Saftströmung von größter Bedeutung gewesen sind.

In den Jahren seiner Assistententätigkeit an der Charité hat Ehrlich auch interessante klinisch-toxikologische Beobachtungen mitgeteilt. So fand er zum ersten Male als Komplikation eines Falles von Phosphorvergiftung eine symmetrische Gangraena pedum.[2]) Auf scharfsinnigste, toxikologische Erwägungen hat Ehrlich eine von Erfolg begleitete Behandlung des Jodismus aufgebaut (Über Wesen und Behandlung des Jodismus).[3]) Im Organismus wird nach seiner Hypothese bei lokaler, saurer Reaktion in Gegenwart von Nitriten Jod aus Jodsalzen abgespalten. Wenn man nun dem Körper Substanzen zuführt, die, wie die Sulfanilsäure, bei hinreichender Unschädlichkeit imstande sind, mit salpetriger Säure Diazokörper zu bilden, so würde eine Entgiftung möglich sein, weil so die Nitrite ausgeschaltet werden. Krönig (Charité Annalen, Bd. X, 1885, S. 177) konnte in einer größeren Anzahl von Fällen Ehrlichs Entdeckung sofort bestätigen, Ehrlich selbst fand gleich heraus, daß die Behandlung in einem Teile der Fälle versagt, und daß sie nach Ausscheidung der Sulfanilsäure wiederholt werden muß.

Einen Gelegenheitsfund erhob Ehrlich in einer Arbeit „Zur Genese der Herzinfarkte“ [4]) bei Vergiftungsversuchen mit Nitrophenylpropionsäure. Diesen Stoff, von dem Bayer gerade ermittelt hatte,

---

[2]) Charité-Annalen, **VII**, 231, **1882** [*17*].

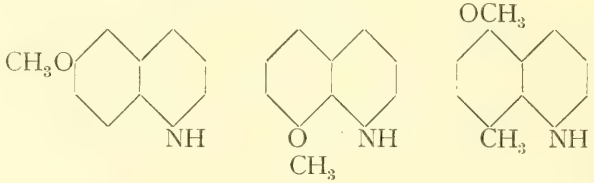
[3]) Ebenda, **X**, 129, **1885** [*33*].

[4]) Centralbl. f. d. med. Wissensch., S. 753, **1881** [*11*]; vgl. auch: [*4*].

daß er durch Reduktion leicht in Indigo übergeht, injizierte Ehrlich Kaninchen in der Hoffnung, über die Topik der Reduktionsprozesse in den Organen etwas zu erfahren. Wenn sich diese Erwartung auch damals noch nicht erfüllte, so konnte Ehrlich doch zeigen, daß durch die dabei entstehende Hämoglobinurie sich Herzinfarkte ausbilden, die er außerdem auch als Folge von Inanitionszuständen beobachtete.

Im Jahre 1886 erschien die Arbeit „Experimentelles und Klinisches über Thallin“[5]), die bereits ganz ein Bild von Ehrlichs Gesichtspunkten bei seinen Verteilungsstudien gibt. Ehrlich untersuchte die Verteilung des Thallins, das damals als Vorläufer des Antipyrins für die Therapie des Fiebers von großer Bedeutung zu sein schien. Thallin wird durch Eisenschlorid in einen sehr intensiven, grünen Farbstoff umgewandelt und konnte in den Geweben nachgewiesen werden, indem die frischen Organe sofort mit Eisenchlorid behandelt wurden und das entstandene Thallingrün mit Sublimat fixiert wurde. Als besonders wichtiges Resultat ergab sich, daß Thallin in fettreichen Organen in größten Mengen aufgespeichert wird. Ehrlich erklärt durch diese Beobachtung die damals schon bekannte Tatsache, daß das außerordentlich leicht oxydable Thallin im Organismus ziemlich resistent ist, da er früher nachgewiesen hatte, daß in den Zellen des Fettgewebes kein freier Sauerstoff vorhanden ist, sondern dieses Gewebe sehr stark reduziert. Ehrlich erklärt aus der Lokalisation des Thallins im Fett, daß das Thallin verhältnismäßig lange im Körper zurückgehalten wird, indem die Thallinbase von den Öltropfen des Fettgewebes, die sie lösen, mit großer Avidität aufgenommen wird. Hier führt Ehrlich die Bezeichnung Lipotropie für die Verwandtschaft eines Stoffes zum Fettgewebe ein. Diese Lipotropie fand sich auch bei einer Anzahl von Farbkörpern, Bismarkbraun, Chysoidin, Aurantia, Curcumin und Dimethylphenylengrün.

Ehrlich verglich die fieberherabsetzende Wirkung des Thallin mit der zweier homologen Verbindungen

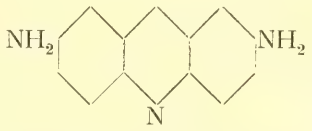



Thallin Ortho-Thallin Anathallin

[5]) Deutsche med. Wochenschr, H. 48 u. 50, **1886** [*40*]. Vgl. auch: Berl. klin. Wochenschr., S. 163; **1886** [*35*] und Deutsche med. Woch., H. 50, S. 899; **1886** [*41*].

und kommt zu dem Ergebnis, daß die Stellung der Methoxygruppe entscheidend für die antifebrile Thallinwirkung ist. Er zeigt zugleich, daß dieser Endeffekt durchaus kein primärer zu sein braucht, vielmehr können in den weniger wirksamen Homologen die Hauptwirkungen nur weniger zur Geltung kommen, weil mit ihnen störende Nebenwirkungen konkurrieren. Das Ortho-Thallin ist ebenso lipotrop wie das Thallin. Die Anordnung der Versuche eilt durchaus der betreffenden Zeit voraus, indem alle Prüfungen der Fiebermittel nicht an gesunden Tieren, sondern an fieberkranken Kaninchen durchgeführt wurden.

Es wird dann gleich gezeigt, daß die Stellung der einzelnen Gruppen im Gesamtmolekül nicht nur in Einzelfällen, sondern ganz generell von Bedeutung für die physiologische Wirkung und insbesondere für die Verteilung einer Substanz im Organismus ist. Während das Thionin




die Nervenendigungen färbt, tut das Isothionin, welches die beiden Amidogruppen am gleichen Benzolring trägt, das nicht.

Verwiesen sei auf die von Ehrlich beim Typhus abdominalis benutzte Behandlung durch kontinuierliche Thallinzuführung (vgl. Ehrlich und Laquer[6]). Als eine fernere Eigenschaft des Thallin erkannte Ehrlich im Tierversuch seine antiphlogistische Funktion: ein experimentell gesetztes Erysipel kann durch genügend hohe Thallindosen sistiert werden.

Bekanntlich haben neuerdings verschiedene Forscher auf die antiphlogistische Wirkung des Atophans und anderer organischer Verbindungen aufmerksam gemacht, und man neigt vielfach dazu, auch bei den Antipyreticis diese Leistung als eine besonders wesentliche in den Vordergrund zu rücken.

Wir haben gesehen, daß Ehrlich immer wieder das Verhalten der Gewebe gegenüber Farbstoffen zur physiologischen Analyse benutzt. Daß ihm das Wesentliche dabei ist, das funktionelle Verhalten der Zellen und ihre Reaktion auf Arzneimittel zu erkennen, leuchtet zwar schon ohne weiteres ein. Dennoch ist es vielleicht zum vollen Verständnis der Ehrlichschen Gedankengänge wünschenswert, direkt darauf hinzuweisen, welche Bedeutung Ehrlich selbst diesen Studien beimißt. Bekanntlich hat Ehrlich zuerst die vitale Färbung eingeführt[7]).

[6]) Berliner klin. Wochenschr., H. 51, 52, **1885** [*186*].

[7]) Deutsche med. Wochenschr., H. 4, **1886** [*36*].

„Will man die Funktionen der lebenden Zelle kennen lernen, so muß man die normalen Gewebe mitten auf der Höhe ihrer Funktion tingieren lernen, d. h. den Färbungsakt in den Organismus selbst verlegen. Unter welchen Bedingungen die Zelle atmet, welche Stoffe die Zelle aufnimmt, welche Reaktion sie besitzt, welche spezifizierten Verwandtschaften (Attraktion) ihr zukommen, wie sie sich gegen körniges Material verhält, wird sicher nur auf dem Wege der Farbenanalyse bekannt werden."

Ehrlich setzt dann auseinander, daß wir die Wirkungen der Gifte im Organismus erst dann erörtern oder gar analysieren können, wenn wir wissen, wohin sie tatsächlich gelangen, wie sie sich im Organismus verteilen. Pharmakologisch am wichtigsten wären in dieser Hinsicht die Alkaloide. Aber wenn man sich bei den Versuchen an Quantitäten hält, die im Rahmen biologischer Möglichkeit liegen, ist ein Nachweis der Alkaloide kaum möglich, da es sich bei diesen hochwirksamen Stoffen um sehr geringe Mengen handelt. Da macht Ehrlich mit Nachdruck auf die Farbstoffe aufmerksam, unter denen sich ja eine Fülle komplizierter und dennoch in ihrer Konstitution genau erkannter organischer Stoffe findet. Hier kann man nach Belieben durch Einführen von Gruppen variieren und am Farbeffekt erkennen, in welche Organe, und in welche feineren Gewebteile sich die körperfremden Substanzen verteilen.

Wenn Zellbestandteile und Pharmaka in chemische Reaktion oder in physikalische Lösungsverhältnisse miteinander treten sollen, so sind natürlich zunächst die chemischen und physikalischen Eigenschaften beider Faktoren maßgebend. Nun fand aber Ehrlich, daß es Gruppen von Nervenfasern gibt, die durch Methylenblau vital gefärbt werden, während andere das Methylenblau ablehnen. Es schien ihm nun unwahrscheinlich, daß hier die Fasern sich verschieden verhalten sollten, und er kam im Zusammenhang mit Erfahrungen, die er bei seinen Untersuchungen über das Sauerstoffbedürfnis des Organismus gemacht hatte und unter kritischer Würdigung der Reaktionsfähigkeit des Methylenblaus und seiner Verwandten zu der Annahme, daß der beteffende Teil des Nervengewebes, dessen Fasern sich mit Methylenblau färben, mit Sauerstoff gesättigt sein und alkalisch reagieren muß. Es erscheint mir im Augenblick unwesentlich, ob Ehrlich hier die ausschlaggebenden Bedingungen restlos getroffen hat. Als entscheidender Fortschritt, der heute noch kaum genügend gewürdigt wird, erscheint mir die Erkenntnis, daß für die biochemische und biophysikalische Reaktion zwischen Gewebebestandteil und fremder Substanz auch das Milieu, d. h. die außer den reagierenden Faktoren, die im Moment den Forscher interessieren, vorhandenen Substanzen, in genügendem Maße berücksichtigt werden muß.

Ehrlich hat offenbar von vornherein beabsichtigt, auch direkt therapeutische Konsequenzen aus dem Studium der Verteilungsgesetze zu ziehen und sehr bald den ersten Schritt auf diesem Wege getan. Da das Methylenblau eine auffallende Verwandtschaft zum Nervensystem, vor allem zu den sensiblen Nerven, zeigte, so versuchte Ehrlich (vgl. Ehrlich und Leppmann[8]), ob vielleicht die Verbindung der Nervensubstanz mit dem Farbstoff den Nerven so verändern könnte, daß Schmerzen beseitigt werden. Auf Grund seiner histologischen Untersuchungen hatte Ehrlich angenommen, daß im lebenden Organismus das Methylenblau nur vorübergehend an die Nerven fixiert ist. Dementsprechend fand sich auch nur eine vorübergehende Heilwirkung.

Ehrlichs Methylenblaustudien führten ihn von der Beobachtung der Farbstoffverteilung im Organismus auch zu seinem ersten Erfolg auf chemotherapeutischem Gebiete. Das Methylenblau hatte sich bei der Färbung der Malariaplasmodien bewährt. Diese Erfahrung, ferner die Beobachtung, daß Methylenblau im Blute lebender Individuen bestimmte Einschlüsse in roten Blutkörperchen, besonders und mit großer Konstanz in kernhaltigen roten Blutkörperchen die Kerne färbt, veranlaßte Ehrlich in Gemeinschaft mit Guttmann[9]) den Farbstoff als Heilmittel bei Malaria zu versuchen. Es wurden in der Tat gute Resultate erzielt, das Fieber konnte beseitigt werden, die Plasmodien schwanden aus dem Blute. Allmählich hat man auch genauer erkannt, in welchen Fällen die Methylenblaubehandlung der Malaria indiziert ist. Trotz aller Fortschritte der modernen Therapie scheint auch das Methylenblau einen dauernden Platz sich hier zu bewahren.

Für die Wirkung des Methylenblaus scheint Ehrlich eine gewisse Fixierung für förderlich zu halten, für die Verteilung entdeckte er sehr früh die Bedeutung physikalischer Bedingungen. Schon in seinen Studien über das Sauerstoffbedürfnis hatte er gefunden, daß unlösliche Farbpartikelchen, wie die des Alizarinblaus oder des Indophenols, nur dann die Hirnrinde färben, wenn sie im Blute in einer allerfeinsten Verteilung, „einer molekulären Zerstäubung", kreisen. Experimentell kann man das erzwingen, wenn man den Farbstoff in das geeignete Vehikel bringt. Injizierte Ehrlich einem Kaninchen ein frisch bereitetes Gemenge physiologischer Kochsalzlösung und alkoholischer Cyaninlösung, so gelang es nie, Hirnfärbung zu erzielen. Ersetzt man das Wasser durch Blutserum, so wird die Größe des ausgeschiedenen Farbstoffkorns erheblich herabgemindert, und man erhält prachtvolle Blaufärbung der Hirnrinde.

[8]) Deutsche med. Wochenschr., H. 23, **1890** [*190*].

[9]) Berliner klin. Wochenschr., H. 39, **1891** [*179*].

Die systematische Untersuchung der Farbstoffverteilung führte nun aber zu einem ganz allgemeinen pharmakologischen Verteilungsgesetz[10]). Ehrlich untersuchte parallel eine größere Anzahl von Farbbasen, primären Farbsäuren und Sulfosäuren von Farbstoffen. Nur unter den Farbbasen fand sich neben dem Methylenblau eine beträchtliche Anzahl von Nervenfarbstoffen oder neurotropen Farbstoffen, wie Ehrlich sie benannt hat. Mit einigen Ausnahmen, die besonders zu erklären sind, fehlten die neurotropen Stoffe unter den Farbsäuren, gänzlich unter den Sulfosäuren. Sehr interessant — in Hinblick auf die späteren Untersuchungen von H. Meyer und Overton — ist die von Ehrlich sogleich festgestellte Tatsache, daß meistens dieselben Stoffe, welche das Hirngrau färben, neben ihrem neutropen auch lipotropen Charakter haben. Ehrlich hat auch nicht übersehen, daß diese Regel einige Ausnahmen hat.

Es ist nun von besonderer Wichtigkeit, die Erklärung kennen zu lernen, die Ehrlich für die von ihm aufgefundenen Gesetze der Lipotropie und Neurotropie gegeben hat. Vorbedingung für die Aufnahme einer Substanz in das Nerven- oder Fettgewebe ist nach Ehrlich, daß sie im Blut und den Körpersäften nur locker gebunden ist. Diese Voraussetzung scheint ihm bei basischen Substanzen am ehesten realisiert. Den Übertritt vom Blut in das Fett oder das Hirngrau vergleicht Ehrlich dann direkt mit dem Verfahren von Stas-Otto, mit Hilfe dessen man mittels Äther Substanzen aus alkalischer, wässriger Lösung ausschüttelt.

Daß Sulfosäuren auch anderer Substanzen als der Farbstoffe ganz allgemein relativ ungiftig sind, würde so eine zwanglose Deutung finden. Noch mehr verständlich ist die von Baumann entdeckte, sehr erhebliche Entgiftung von Stoffen durch den Übergang in die entsprechenden Ätherschwefelsäuren, weil hier die Entgiftung einmal durch die Ausschaltung der wirksamen Hydroxylgruppe, sodann aber auch durch den mitigierenden Einfluß des Schwefelsäurerestes zustande gebracht wird.

H. Aronson („Über die Wirkungsweise saurer Antifebrin- und Phenacetinderivate“[10a])), hat später in Ehrlichs Laboratorium das Gesetz, nach dem die Einführung saurer Gruppen in das Molekül die Wirkungen herabsetzt, auch für die Antifebrilia bestätigt. Dabei zeigte sich, wie Ehrlich es erwartet hatte, daß Säurereste in verschiedenster

[10]) Therapeut. Monatshefte, März S. 90, **1887** [*44*].
[10a]) Deutsche med. Wochenschr., H. 47, S. 1285, **1891** [*245*].

Bindungsform die Wirkung der Arzneimittel vermindern. Bei den Tierversuchen leistete Aronson die von Ehrlich erfundene Cakesmethode ausgezeichnete Dienste. Um nämlich Substanzen möglichst gleichmäßig zu verfüttern, versetzt Ehrlich abgewogene Mengen der Cakesmasse mit einer bekannten Lösung des zu verabreichenden Stoffes. Man kann dann Tieren genaue Giftmengen per os applizieren und auch die Konzentration der Substanzen im Futter willkürlich beeinflussen.

Die Substanzen, welche die Natur liefert oder das Laboratorium synthetisch darstellt, besitzen naturgemäß neben der etwa erwünschten Heilwirkung Nebenwirkungen, welche immer überflüssig und oft sehr störend sind, nicht selten die Anwendung an und für sich sehr wirksamer Präparate vollkommen vereiteln. Ehrlich hat erkannt, daß diese unerwünschten Nebenwirkungen mehr oder minder auch durch die Verteilung der Substanzen im Organismus bedingt sein können. Wenn eine Substanz ihre Wirkungen z. B. im Gehirn entfalten soll, so wird es immer überflüssig und nicht selten schädlich sein, wenn sie sich bei der Einführung in den tierischen Körper auch in die Leber oder das Herz begibt. Da nun die organische Chemie zuweilen ganze Körperklassen von chemisch und pharmakologisch ähnlichen Substanzen zur Verfügung stellt, so ist es möglich, durch systematische Durchprüfung zu ermitteln, ob vielleicht die gewünschte und die unerwünschte Verteilung eine Funktion einer verschiedenen chemischen Konstitution ist. Als das Kokain und seine ausgesprochen anästhesierende Wirkung entdeckt war, wählte Ehrlich[11]) gerade diesen Körper für derartige Studien, weil er gefunden hatte, daß das Kokain im Gegensatz zu anderen Alkaloiden ausgesprochene, lokale Organveränderungen macht, die mit der gewünschten anästhesierenden Wirkung offenbar in keiner direkten Beziehung stehen. Außerdem war die Kokaingruppe chemisch so weit durchgearbeitet, daß Ehrlich durch Einhorn (vgl. Ehrlich und Einhorn[12])), der dieses Gebiet bearbeitet hatte, eine genügende Anzahl von Substanzen erhalten konnte. Ehrlich beobachtete bei Mäusen nach Kokainvergiftung eine typische, sonst nicht vorkommende Leberveränderung schwerster Art. Seine Untersuchungen wandten sich nun der präzisen Fragestellung zu, inwieweit dieselbe Atomgruppierung im Kokainmolekül Vorbedingung für die auf das Nervensystem gerichtete anästhesierende Wirkung und für die Leberwirkung ist. Wenn auch das zur Verfügung stehende chemische Material es nicht ermöglichte, die beiden oder wenigstens die praktisch wichtige, anästhetische Komponente in voller Reinheit, d. h. frei von leber-

[11]) Deutsche med. Wochenschr., H. 32, **1890** [*48*].

[12]) Ber. d. Deutschen Chem. Ges., **XXVII**, 1870, **1894** [*174*].

schädigenden Eigenschaften zu isolieren, so kam Ehrlich doch zu dem prinzipiellen Ergebnis, daß die beiden Eigenschaften nicht auf der gleichen Atomgruppierung basieren. Damit war die Chance gegeben, zu einem Anästheticum zu gelangen, das frei von der unerwünschten Nebenwirkung ist.

In einem 1898 im Verein für innere Medizin zu Berlin gehaltenen Vortrage hat Ehrlich[13]), nachdem er seine Grundidee nunmehr nach den verschiedensten Richtungen experimentell gestützt hatte, seine Resultate zusammengefaßt, seine allgemeinen Gesichtspunkte im Zusammenhange dargestellt und die Stellung der Verteilungsforschung und der allgemeinen Pharmakologie im Gesamtbild der Biologie beleuchtet.

Es mußte seine besonderen Gründe haben, wenn ein bis zu einem gewissen Grade selbstverständliches und auch schon früher theoretisch als wesentlich erkanntes Prinzip, wie die Annahme, daß sich zwischen der chemischen Konstitution und der pharmakologischen Wirkung die Verteilung im Organismus als Bindeglied einschiebt, kaum vor Ehrlich experimentell bearbeitet worden war. Ehrlich legt nun die Methoden dar und zeigt, wo Schwierigkeiten vorhanden sind, und wo sie sich vermeiden lassen:

Zunächst kann man etwas über die Verteilung einer Substanz durch die Beobachtung der Funktionen eines Tieres nach Einverleibung eines Arzneimittels erfahren. Doch war damals im wesentlichen nur das Muskel-Nervensystem dieser Methode zugänglich.

Heute kann man mit Hilfe der neueren Pawlowschen Methodik und vielleicht in Zukunft bei Anwendung der Abderhaldenschen Prüfungen auch auf diesem Wege weiterkommen.

Die chemische Analyse versagt bei den schon in kleiner Menge wirksamen Substanzen. Namentlich kann sie oft über die feinere Verteilung innerhalb eines Organs nichts aussagen.

Die histologische Untersuchung kann entschiedenere Aufklärung über Giftverteilung liefern, wenn sie nicht die mehr banalen häufig vorkommenden Gewebsschädigungen berücksichtigt, sondern nach spezifischen Läsionen fahndet, wie sie etwa Ehrlich in der durch Kokain bewirkten, schaumigen Degeneration der Leberzellen aufgefunden hat. Als Paradigma, wie er sich pharmakologisch brauchbare, histologische Methoden denkt, weist Ehrlich auf die Untersuchungen Nissls hin. Besonders scharfe Resultate erhält man bei der subakuten Vergiftung, weil bei der akuten oft die spezifischen Organveränderungen

[13]) v. Leyden-Festschrift, **I**, **1902** [76].

noch zu wenig histologisch ausgeprägt sind. Hier ist auch die unter Ehrlichs Leitung ausgeführte Dissertation von Eiseck[13a]) (Beiträge zur Phosphorvergiftung) zu nennen, in der histologisch die Verteilung, Kurve und Anordnung der Verfettung studiert wurde und neue Herde, z. B. in der Submaxillaris, aufgedeckt wurden.

Wir werden später noch Studien von Levaditi und Rehns aus Ehrlichs Laboratorium kennen lernen, welche zeigen, daß die anatomisch-histologische Untersuchung vergifteter Tiere wesentliche Aufschlüsse über die Verteilung der Gifte ermöglicht. Hier sei schon die Arbeit von Levaditi[14]) erwähnt, welche über die Veränderungen bei der Kumarinvergiftung berichtet. Es stellte sich heraus, daß das Kumarin in erster Linie innerhalb der Leber zu einer Nekrose der Leberzellen führt, dagegen das Pfortadergebiet und seine Verzweigungen freiläßt, so daß wir auch hier uns von dem Vorhandensein einer durchaus spezifischen Verteilung überzeugen können.

Mit besonderem Nachdruck lenkt Ehrlich aber wiederum die Aufmerksamkeit auf die Bedeutung der vitalen Färbung für das Studium der Verteilungsgesetze. Er weist darauf hin, daß es neben den häufigen, polytropen Farbstoffen auch monotrope gibt, die nur ganz bestimmte Gewebssysteme färben. In ständigem Konnex mit Ehrlich hat im letzten Jahrzehnt der leider der Wissenschaft zu früh entrissene Goldmann mehrfache, neue Ergebnisse erzielt; aber auch schon 1898 konnte Ehrlich auf Grund eigener Untersuchungen interessante Einzelbeobachtungen mitteilen.

Auch die Ausscheidung der Farbstoffe zeigt eine charakteristische Verteilung. Substanzen mit hohem Molekulargewicht, die einen mehr kolloidalen Charakter zeigen, wie das Benzopurpurin, oder solche, die im Organismus Eiweißverbindungen eingehen oder selbst eiweißähnlich sind, passieren nicht das Nierenfilter, sondern werden durch die Galle und den Darmsaft ausgeschieden.

Wie spezifisch Farbstoffe einzelne Gewebsanteile bevorzugen, zeigt z. B. das Methylenblau, das im Pankreas die Langerhansschen Inseln intensiv färbt, in den Gefäßen nicht die Muskeln, welche die Kaliber-einstellung gewährleisten, sondern nur die, welche den Gefäßverschluß herbeiführen.

Ehrlich hat die Farbstudien zur Aufklärung des Zusammenhanges zwischen Konstitution und Verteilung dauernd im Auge behalten. So hat er viel später (1904) zusammen mit C. A. Herter[15]) eine neue

[13a]) I.-D. Berlin, **1884** [*345*].

[14]) Centralbl. f. allgem. Pathol. u. pathol. Anatomie, **XII**, 241, **1901** [*407*].

[15]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, **XLI**, 379, **1904** [*181*].

Methode solcher Verteilungsstudien beschrieben. Injiziert man Tieren z. B. Anilin und behandelt nach Tötung des Tieres die einzelnen Organe mit Naphthochinonsulfosäure, so färbt sich das Organ, in das das Anilin gelangt ist, rotorange.

Die Lokalisation in den Organen beruht auf inneren, in den Geweben liegenden Ursachen und nicht auf der Gefäßverteilung, auch nicht auf einer spezifischen Durchlässigkeit der Gefäßendothelien der einzelnen Organe. Jedoch hat nach Ehrlich das Gefäßsystem dennoch einen bemerkenswerten Einfluß auf die Verteilung zugeführter Substanzen. Füttert man Mäuse mit bestimmten Derivaten des Paraphenylendiamins, so färben sich nur bestimmte Muskelpartien des Zwerchfells. Es sind dieselben Muskelpartien, deren motorische Nervenendigungen am besten Methylenblau annehmen. Es handelt sich um Muskelpartien, die besonders gut mit Blut versorgt sind. Ehrlich bildet sich die Vorstellung, daß diesen Gewebsanteilen neben der fremden Substanz auch der Sauerstoff und die Nährstoffe besonders reichlich zufließen und so für die Färbung die günstigsten Bedingungen geschaffen werden (vgl. Rehns[16]).

Wie schon früher erwähnt, schreibt Ehrlich neben der Gewebssubstanz, die mit dem Gift reagiert, auch dem chemischen Milieu, von dem er vor allem die Sauerstoffsättigung und die Reaktion hervorhebt, eine unterstützende Rolle auf die Verteilung zu. Isolierte Bleilähmungen und Arsenlähmungen könnten z. B. so ihre Erklärung finden.

Ehrlich zeigt dann weiter, daß man den Verteilungstypus eines Körpers durch einfache chemische Mittel abändern kann. Zunächst kann eine Einwirkung durch die gleichzeitige Anwesenheit einer zweiten Substanz gehemmt werden. Injiziert man einem Frosch Methylenblau, so färben sich die Nervenendigungen. Fügt man aber der Methylenblaulösung geeignete Mengen eines sauren Farbstoffes, wie z. B. Orange-G., hinzu, so ruft die Injektion des Gemisches nicht mehr die Nervenfärbung hervor.

Ferner wird unter Umständen die Lokalisation eines Stoffes in einem Gewebe überhaupt erst durch gleichzeitige Zuführung einer zweiten Verbindung, welche mit der ersten keinerlei Verbindungen einzugehen braucht, ermöglicht, wie folgendes Beispiel lehrt:

„Infundiert man einem Kaninchen Methylenblau, so beobachtet man stets eine schön ausgesprochene Färbung des Pankreas, welche insbesondere durch eine Färbung der Granula und des Protoplasmas der Langerhansschen Inseln bedingt wird. Eine Darstellung der Nervenendigungen habe ich aber unter diesen Verhältnissen nie beobachtet. Fügt man aber der Infusionslösung

[16]) Archives internationales de Pharmacodynamie, **VIII**, 203, **1901** [*513*].

gewisse Farbstoffe der Triphenylmethanreihe hinzu, die an und für sich nicht die Nervenendigungen darstellen, so sieht man häufig eine geradezu herrliche Färbung des Nervenapparats auftreten. Ich glaube, daß man in diesen und anderen Fällen solcher Begünstigung nur daran denken kann, daß durch die begünstigenden Stoffe die Funktion der betreffenden Apparate eine Modifikation erfährt, welche eine Änderung des chemischen Milieus und dadurch eine Änderung der Speicherungskraft nach sich zieht. Es ist möglich, daß ähnliche Momente auch bei manchen Formen abnormer Arzneiwirkungen, insbesondere der ererbten oder erworbenen Überempfindlichkeit eine gewisse Rolle spielen."

Nach meiner Überzeugung sind derartige Anomalien der regierenden Gewebssubstanzen und ihres Milieus auch bedeutungsvoll für das Verständnis der abgeänderten Arzneimittelverteilung im erkrankten Organismus, und ich habe daher bei Gelegenheit meiner diesbezüglichen Untersuchungen auch mit Nachdruck auf diese Versuche und Anschauungen Ehrlichs hingewiesen.

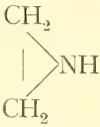
Vielleicht spielen diese Dinge auch bei der Bewertung der symptomatischen Kombinationstherapie, die namentlich durch Bürgi neuerdings vielfach studiert worden ist, eine gewisse Rolle, worauf hier nur hingewiesen sein mag. Ebenso wird auch in der Chemotherapie bei mancher Kombinationswirkung eine Milieuänderung in Frage kommen.

Wie wir schon auseinandergesetzt haben, hat Ehrlich bereits in den achtziger Jahren den auffallenden Parallelismus zwischen Neurotropie und Lipotropie entdeckt und die Vorstellung entwickelt, daß es sich hier um eine Art physikalischer Extrahierung der im Blute kreisenden körperfremden Stoffe durch die Fett- resp. Nervensubstanzen handelt. Mit Recht verweist er nunmehr darauf, wie nahe Berührungspunkte zwischen seinen Feststellungen und Auffassungen und den inzwischen von H. Meyer und Overton aufgefundenen Gesetzmäßigkeiten und Deutungen bestehen. Ehrlich war damals der Ansicht, daß bei Wirkung chemisch indifferenter Körper die Reaktion mit dem Organismus als eine physikalisch-chemische aufzufassen ist, und er diskutiert auch, inwiefern man hier von Kontaktwirkungen sprechen kann. Aber selbst bei Substanzen mit chemisch aktiven Gruppen, wie etwa basischen Stoffen oder Körpern mit Aldehydgruppen war Ehrlich vorläufig außerordentlich skeptisch, ob im Organismus eine substitutive Synthese stattfindet. So kommt er zu einer Ablehnung der in dieser Richtung sich bewegenden Vergiftungstheorie von Löw. Zwei chemischen Gruppierungen hat Ehrlich von Anfang an ausgesprochene Wirkungen im Organismus zuerkannt, einmal den ungesättigten Verbindungen und dann Ringbindungen mit großer Neigung zur Sprengung des Ringes, also sehr gespannten Ringen.

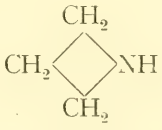
Bei der ersten Gruppe, den ungesättigten Verbindungen mit

doppelten und dreifachen Bindungen, nimmt Ehrlich an, daß diesen Bindungen nicht die eigentliche reaktive Wirkung auf das Protoplasma zukommt. Hat aber eine Substanz an und für sich die Fähigkeit, mit dem Protoplasma in Beziehung zu treten, es zu verändern oder zu vergiften, so wirken die im vergiftenden Molekül vorhandenen mehrfachen Bindungen wirkungsverstärkend, auxotox.

Ehrlich hat sich für diesen wichtigen Punkt stets interessiert und ihn in seinem Laboratorium experimentell bearbeiten lassen. Dabei gelang es auch, eine Ausnahme dieser Regel festzustellen, indem Reid Hunt[17]) fand, daß die Existenz der Vinylgruppe im Chininmolekül nicht die Giftwirkung des Chinins gegenüber Säugetieren und Infusorien verstärkt, da Chininderivate, bei denen die doppelte Bindung aufgehoben war, unverändert giftig waren. Als Nebenbefund dieser Untersuchung zeigte sich, daß durch Addition von Chlorwasserstoff an das Chininmolekül die Toxizität des Chinins gegenüber Säugetieren verringert, gegenüber gewissen Infusorien aber erhöht wird, eine Beobachtung, die chemotherapeutisch von Bedeutung war. Bekanntlich hat Morgenroth später durch großzügig angelegte Untersuchungen gerade die Chiningruppe zu besonderer chemotherapeutischer Bedeutung gebracht.

Im Gegensatz dazu spricht Ehrlich Ringverbindungen wie dem Vinylamin, das als  Äthylenimin aufzufassen ist, eine primäre Giftigkeit zu. Derartig gespannte Ringe besitzen in ihrer chemischen Reaktionsfähigkeit allein schon die Chance, sich an das Protoplasma zu ketten und es chemisch zu verändern.

Levaditi[18]) hat die Giftwirkung dieser Verbindung in Ehrlichs Laboratorium genauer untersucht. Das Äthylenimin ist insofern sehr interessant, als es eine ausgezeichnete Demonstration für die Distributionslehre Ehrlichs abgibt. Bei geeigneter Dosierung führt es nämlich zu einer umschriebenen Nekrose der Nierenpapille, während die Nierenrinde vollkommen intakt bleibt. Dem Äthylenimin sehr nahestehende Substanzen wie das von Marckwald genau untersuchte Trimethylenimin



[17]) Arch. internat. de Pharmacodynamie et de Therapie, **XII**, 497, **1904** [*377*].
[18]) Ebenda, **VIII**, 45, **1901** [*406*].

bewirken diese Nierenveränderung nicht. Rehns[19]) fand dementsprechend in Ehrlichs Laboratorium, daß von einer Gruppe von Chinolinderivaten, die sich untereinander nahestehen, nur einige spezifische Nierenveränderungen herbeiführen, nahe verwandte Stoffe aber nicht.

Wie wir sehen, hat Ehrlich in früheren Jahren direkte Synthesen zwischen Arzneimitteln und Protoplasmasubstanzen nur als ganz vereinzelte Ausnahmen angenommen, denen keine allgemeine Bedeutung zukam. Die eigentliche Synthese reservierte er für das Gebiet der Toxine, die allerdings nach Ehrlich mit den dazu gehörigen Rezeptoren, resp. Antitoxinen echte Synthesen eingehen könnten. In den letzten Jahren hat Ehrlich diese starre Differenzierung auf Grund seiner chemotherapeutischen Studien, auf die wir in diesem Kapitel nicht eingehen können, gemildert und ist zu der Annahme von Chemozeptoren gelangt. Die Bindung einer Substanz an einen Chemozeptor wäre etwa ein Mittelding zwischen der einfachen, physikalischen Fixierung und der Bindung der haptopheren Toxingruppe an die Receptoren[20]).

Ehrlich erwartet von dem Studium der Distribution, Konstitution und Wirkung nicht nur biologische Erkenntnis, sondern ist auch davon überzeugt, daß für die praktischen Ziele der Pharmakologie wesentliche Fortschritte auf diesem Wege zu erreichen sind. Man muß Organtherapie in dem Sinne treiben, daß man bei der Zuführung eines Mittels, welches auf die Funktionen des Organismus einwirken soll, Rücksicht auf das einzelne Organ nimmt, in welchem die Funktion beeinflußt werden soll. Das synthetisch herzustellende Mittel muß so konstruiert werden, daß es möglichst nur in die Organe gelangt, in die man es dirigieren will. Daneben muß dann die Atomgruppierung im Molekül vertreten sein, welche für die eigentliche therapeutische Wirkung notwendig ist.

Zum Schluß wollen wir noch eine Arbeit von Hunt[21]) referieren, deren besondere Bedeutung darin liegt, daß sie die Fragestellung der Beziehungen von Konstitution, Distribution und Wirkung auf die Frage des Antagonismus zwischen Gift und Gegengift ausdehnt. Die Giftwirkung der Nitrile und die Möglichkeit, sie im Tierkörper durch Natriumthiosulfat und andere Schwefelverbindungen zu entgiften, war durch Arbeiten von Lang aus Hofmeisters Laboratorium und durch Heymans und seine Mitarbeiter bereits vorher in ausgezeichneter Weise

---

[19]) Arch. internat. de Pharmacodynamie et de Thérapie, **VIII**, 199, **1901** [*512*].

[20]) Berichte d. Deutschen Chem. Gesellsch., **XLII**, 17, **1909** [*108*].

[21]) Arch. internat. de Pharmakodynamie et de Thérapie, **XII**, 447, **1904** [*376*].

bearbeitet worden. Hunt hat nun weiter zunächst die Giftigkeit einer Reihe von Nitrilen verglichen. Dabei fand sich eine aus der Reihe fallende, starke Giftwirkung des Chloralzyanhydrins. Die Erklärung wird — entsprechend der Anschauungen Ehrlichs — darin gefunden, daß der Chloralhydratrest das Eindringen des Chloralzyanhydrins in lebenswichtige Organe, wie z. B. das Zentralnervensystem, die sehr leicht durch Blausäure geschädigt werden, begünstigt. Die Blausäure würde dementsprechend in größerer Konzentration in diesen Organen vorhanden sein, als nach dem Einspritzen eines Nitrils, das sich gleichmäßiger in wichtige und unwichtige Organe verteilt. Anknüpfend an die Entdeckung von Lang, daß die Nitrile im Organismus durch Schwefelverbindungen entgiftet werden können, hat Hunt dann eingehend untersucht, inwieweit das Natriumthiosulfat, dessen Wirkung in verschiedener Dosierung sorgfältig geprüft wurde, durch andere Schwefelverbindungen (Thialdin, Isobutylsulfhydrat, Carbothialdin, salzsaures Thialdin, Xanthogensaures Kalium) als Gegengift gegen Nitrile ersetzt werden kann. Als maßgebende Wirkungsfaktoren dürften nach Hunt in Frage kommen: Die Geschwindigkeit der Resorption und der Ausscheidung der Gifte und Gegengifte, die Schnelligkeit, mit der diese Substanzen im Organismus Veränderungen durchmachen (auf der einen Seite die Abspaltung der CN-Gruppe, auf der anderen Seite die Abspaltung des Schwefels) und die Verteilung des Giftes und Gegengiftes im Organismus. Nach Hunt können durch die Verteilung die übrigen Faktoren zum großen Teil erklärt werden. Damit die Entgiftung zustande kommt, muß nicht nur Gift und Gegengift in derselben Zelle gleichzeitig vorhanden sein. Es müssen auch Gift und Gegengift gerade in Zellen gelangen, in denen die Abspaltung und Bereitstellung der wirksamen Molekülanteile und die entgiftende Rhodanbildung gut von statten gehen kann.

Durch Berücksichtigung der Wirkung der Lösungsmittel der einzelnen Substanzen wurde gefunden, daß auch der Alkohol eine antagonistische Wirkung gegen einige Nitrile hat. Die Wirkung wurde gegen Azetonitril und Formaldehydzyanhydrin ausgeübt. Die Erklärung sucht Hunt in der leichten Oxydierbarkeit des Alkohols im Organismus im Vergleich mit der schwereren Oxydierbarkeit der Methylgruppe des Azetonitrils und der Oxymethylgruppe des Formaldehydzyanhydrins. Alkohol und die Nitrile werden vielleicht von denselben Zellen aufgenommen. Durch den Alkohol wird der disponible Sauerstoff der Zellen aufgebraucht. Vielleicht spielen auch Lösungsverhältnisse eine Rolle. Auch Traubenzucker wirkt entgiftend gegen-

über Azetonitril, was Hunt ebenfalls auf seine leichte Oxydierbarkeit zurückführt.

Wenn man den in diesem Abschnitt behandelten Anteil von Ehrlichs Forscherarbeit im ganzen übersieht, so wird man, wie überall, wo man diesem Werke nähertritt, erkennen, wie direkt jeder Einzelgedanke und jede Einzelbeobachtung mit der Gesamtarbeit im Zusammenhang steht, und wird überzeugt sein, daß seine Anregungen noch für lange Zeit die Arbeit der jüngeren Generation befruchten werden.

5.

# Physiologische und Pathologische Chemie.

Von

**G. Embden,**
Frankfurt a. M.

## a) Die Diazoreaktion des Harnes.

Die Entdeckung der Diazoreaktion des Harnes wurde von P. Ehrlich zuerst im Jahre 1882 unter dem Titel „Über eine neue Harnprobe“[1]) mitgeteilt und gehört seitdem zu dem unentbehrlichen klinischen Rüstzeug bei der Diagnose fieberhafter Erkrankungen.

Ehrlich hatte früh die Bedeutung der Grießschen Entdeckung für die Medizin erkannt, da sie die Möglichkeit bot, auf das Auftreten und die Ausscheidung bestimmter aromatischer Körper im menschlichen Stoffwechsel zu fahnden.

Eine Diazoverbindung entsteht bekanntlich durch Einwirkung von salpetriger Säure auf ein primäres aromatisches Amin, und eine derartige Verbindung hat die Eigenschaft, mit einer großen Reihe von Körpern Farbstoffe zu bilden, so vor allem wiederum mit aromatischen Aminen die Amidoazofarbstoffe und mit Phenolen die Oxyazofarbstoffe.

Ehrlich benutzte nach dem Vorgange von Victor Meyer direkt Lösungen, in denen unter dem Einflusse von Nitriten und Mineralsäuren Diazokörper entstanden waren, und zwar bediente er sich der Paramidobenzolsulfosäure (Sulfanilsäure) als aromatischer Komponente, da diese eine leicht umgängige Diazoverbindung liefert. Er ließ diese in bestimmtem Verhältnis auf menschliche Harne unter Zusatz von Ammoniak einwirken und erhielt dann im normalen Urin niemals eine Farbstoffbildung. Dagegen stellte es sich heraus, daß bei einer gewissen Art von Urinen ein roter Farbstoff auftrat, der auch im Schüttelschaum deutlich erkennbar war.

[1]) Zeitschr. f. klin. Med. **V**, 285, **1882** [*13*].

Ehrlich[2] [3] [4]) selbst fand diese Reaktion stets negativ in allen normalen Harnen und in den Harnen von nicht fiebernden Kranken. Im Gegensatz hierzu unterschied er (vgl. hierzu auch die Arbeiten von Fischer[4a]), Brecht[4b]), Spiethoff[4c]) bei den fieberhaften Erkrankungen drei Gruppen:

1. solche, bei denen die Diazoreaktion konstant vorkommt. Dahin gehören der Typhus abdominalis und die Morbillen,

2. solche, bei denen sie je nach der Art der Krankheit häufiger oder seltener vorkommt; hier sind das Erysipel, die Miliartuberkulose, Scharlach, Diphtherie und Pneumonie zu nennen,

3. solche, die fast stets negativ sind: die Polyarthritis und die Meningitis.

Diese Einteilung ist bis zum heutigen Tage aufrecht erhalten worden und findet sich in den neuesten Büchern der klinischen Diagnostik. Für die Differentialdiagnose des Typhus gehört die Diazoreaktion zu den wichtigsten Faktoren, und kein Kliniker möchte sie heute missen. Bei Tuberkulose hat ihr Ehrlich eine besondere prognostische Bedeutung zugeschrieben; er betrachtet sie hier, wie er auch erst jüngst[5]) wieder hervorgehoben hat, als ein durch aus ungünstiges Zeichen[5a].)

Ehrlich selbst[6]) hat nun verschiedene Modifikationen der echten Diazoreaktion unterschieden, und zwar teilt er diese ein, je nachdem sie schon bei saurer oder erst bei ammoniakalischer Reaktion auftreten, in primäre und sekundäre Farbenreaktionen.

Zu den primären Reaktionen gehört:

1. die Verdunkelung, die auf Bilirubin zurückzuführen ist[7]) [8]). Bilirubin gibt nämlich mit Sulfodiazobenzol eine Verdunkelung, bei tropfenweisem Zusatz von konzentrierter Säure violettblaue Färbung;

2. die primäre Vergilbung, das „Eigelb". Diese findet sich bei Pneumonie vor und während der Krise, und bei dem von Gerhardt als Urobilinikterus bezeichneten Krankheitsbild. Ihre Ursache ist das Urobilinogen, von dem noch an anderer Stelle die Rede sein wird. F. Oppenheimer[9]) hat unter Ehrlichs Leitung die gelbe Diazoreaktion eingehend

---

[2]) Charité-Annalen, **VIII**, 140, **1883** [*22*].
[3]) Deutsche med. Wochenschr., H. 38, **1883** [*23*].
[4]) Berl. klin. Wochenschr., S. 135, **1883** [*19*].
[4a]) I.-D. Berlin **1883** [*347*]. [4b]) I.-D., Berlin **1883** [*322*]. [4c]) I.-D., Berlin **1884** [*589*].
[5]) Deutsche med. Wochenschr., H. 50, **1913** [*152*].
[5a]) Vgl. auch: Deutsche med. Wochenschr., H. 8, Vereinsbeilage, S. 46, **1899** [*64*].
[6]) Deutsche med. Wochenschr., H. 27, **1884** [*26*].
[7]) Centralbl. f. klin. Med., Nr. 45, **1883** [*24*].
[8]) Charité-Annalen, **XI**, 339, **1886** [*39*].
[9]) I.-D. Berlin **1885** [*494*].

analysiert und sie auf einen aus dem pneumonischen Exsudat stammenden, durch das Reduktionsvermögen des Lungengewebes aus dem Hämoglobin (resp. Bilirubin) gebildeten Stoff zurückgeführt.

Von den sekundären Modifikationen ist die Färbung mit Dextrose zu nennen, die jedoch mit starker Salzsäure in Rotviolett umschlägt, was sie von der echten Diazoreaktion unterscheidet.

Wie man nach den chemischen Grundlagen der Diazoreaktion erwarten muß, gibt es noch eine ganze Zahl von Körpern, die mit dem Ehrlichschen Reagens Farbstoffe bilden. So geben die Phenole ein säurebeständiges Orange, auch viele Arzneimittel reagieren, so Chrysarobin, die Opiate, Naphthalin, doch kann man diese stets leicht ausschließen.

Anstatt der Sulfanilsäure haben Ehrlich und Friedenwald das Paramidoacetophenon vorgeschlagen, das ein schöneres Rot gibt (vgl. hierzu: M. Beck, Über die prognostische Bedeutung der Diazoreaktion bei Phthisikern, Charité-Annalen XIX, 583, 1894).

Welches ist nun der Körper, dessen Auftreten im Harn die typische Diazoreaktion veranlaßt?

Stets handelt es sich hier bei der positiven Reaktion um Zustände, die mit stark erhöhtem Eiweißzerfall einhergehen, und zwar hat Ehrlich selbst das Auftreten abhängig von der Resorption von Eiweißzerfallprodukten, z. B. bei Abszeßbildungen und Exazerbationen tuberkulöser Prozesse beobachtet.

Ehrlich und Brieger[10]) haben nun schon im Jahre 1884 versucht, das Prinzip der Diazoreaktion aus dem Harne zu isolieren und zwar erhielten sie aus dem Bleiessigniederschlag ein Kalksalz, das zwar noch unrein war, aber die Diazoreaktion in exquisiter Weise gab.

1896 entdeckte Dolgow (zitiert nach Clemens, s. später), daß die fragliche Substanz Schwefel und Stickstoff enthielt, demnach zu den Eiweißabbauprodukten zu rechnen sei und den Harnfarbstoffen angehöre.

Nach der Darstellung der Oxyproteinsäure aus normalen und pathologischen Harnen durch Bondzynski und Gottlieb (Centralbl. f. d. med. Wiss., S. 577, 1897) sprachen Bondzynski und Panek (Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. XXXV, 2959, 1902) die Vermutung aus, daß diese die der Diazoreaktion zugrunde liegende Substanz sei.

Schließlich gelang es Clemens (Deutsch. Arch. f. klin. Med. LXIII, 74, 1899), dem wir sehr ausführliche Untersuchungen über die Diazoreaktion verdanken, in Anknüpfung an die alten Untersuchungen von Ehrlich und Brieger, durch Fällung mit Bleiessig ein in Alkohol unlösliches relativ reines Bariumsalz zu gewinnen, das Schwefel und Stickstoff enthielt und starke Diazoreaktion gab (Kongreß f. innere Med., S. 458, 1904).

M. Weiß ist es in allerletzter Zeit gelungen, etwas Klarheit in das Dunkel der Diazoreaktion zu bringen. Er deckte zunächst den Parallelismus zwischen

[10]) Deutsche med. Wochenschr., H. 27, S. 430, 1884 [27].

Ausscheidung des Neutralschwefels und Stärke der Diazoreaktion auf (Bioch. Zeitschr. XXVII, 175, 1910). Dann vermochte er in einer weiteren Untersuchung (Bioch. Zeitschr. XXX, 333, 1911) zu zeigen, daß in der Antoxyproteinsäurefraktion der die Diazoreaktion gebenden Harne, von dieser durch überschüssige Essigsäure abtrennbar, das Prinzip der Ehrlichschen Diazoreaktion enthalten ist, und das man aus diesen durch Oxydation mit Permanganat das echte Urochrom, den gelben Harnfarbstoff erhalten kann. Die fragliche Substanz verhält sich also zu diesem wie ein Chromogen und ist von Weiß als Urochromogen bezeichnet worden.

Auf Grund der Oxydierbarkeit zu Urochrom hat Weiß auch eine kolorimetrische Bestimmungsmethode des Urochromogens, d. h. also der Stärke der Diazoreaktion ausgearbeitet.

Es wurde bereits oben erwähnt, daß sich die Diazoreaktion auch zum Nachweis von Bilirubin eignet.

Das Bilirubin ist vor fast allen anderen darauf untersuchten Substanzen dadurch ausgezeichnet, daß es schon bei ganz stark saurer Reaktion sich mit dem Diazoreagens zu einem Farbstoff kuppelt.

Die Technik dieser Reaktion ist von Pröscher[11]) unter Ehrlichs Leitung weiter vervollkommnet worden.

Diesem Forscher gelang es auch, ein kristallisiertes Azobilirubin darzustellen, wobei er als Paarling Amidoacetophenon benutzte. Die salzsaure Lösung des Diazoacetophenons wird dabei der Chloroform-Alkohollösung des Bilirubins allmählich zugegeben, wobei Blaufärbung eintritt. Nach Beendigung der Reaktion wird die Lösung in stark mit Salzsäure angesäuertes Wasser gegossen. Mit dem Chloroform scheidet sich hierbei der gesamte Azokörper aus. Beim Entfernen der Säure aus dem Chloroform durch Waschen mit Wasser schlägt die blaue Farbe des Azobilirubins in Rot um. Aus der säurefrei gewaschenen Lösung konnte das Azobilirubin kristallisiert und in analysenreinem Zustand erhalten werden. Die Analyse bewies, daß das Acetophenonazobilirubin eben die Monazoverbindung des Gallenfarbstoffes darstellt.

Die Lösungen des Azobilirubins in Äthylalkohol und Amylalkohol liefern Absorptionsspektra, deren Streifen teilweise verwaschen sind. Auf Zusatz von Salzsäure, Ammoniak und äthylalkoholischer Kalilauge treten jedoch, gleichzeitig mit Farbenveränderungen der Lösung, so charakteristische Änderungen des spektralen Verhaltens ein, daß das Azobilirubin auf spektroskopischem Wege leicht nachgewiesen werden kann.

Das Azobilirubin ist gegenüber verschiedenen chemischen Eingriffen weitaus beständiger, als das Bilirubin selbst.

[11]) Zeitschr. f. physiol. Chem., **XXIX**, 411, **1900** [*504*].

### b) Die Reaktion mit Dimethylamidobenzaldehyd.

Im Jahre 1901 beschrieb Ehrlich[12]), daß beim Zusatz von Dimethylamidobenzaldehyd in salzsaurer Lösung zu normalem Harn gewöhnlich eine schwache Rotfärbung auftritt, während der Harn unter verschiedenartigen pathologischen Bedingungen deutlich rot wird.

Zur Ausführung der Reaktion wird der Aldehyd in etwa 2%iger salzsaurer Lösung tropfenweise dem Harn zugeführt. Nach wenigen Sekunden färbt sich der Harn je nach der Menge des vorhandenen reagierenden Körpers schwach oder stark hell kirschrot.

Unter Ehrlichs Leitung hat dann Pröscher[13]) zuerst versucht, die Natur des der Dimethylamidobenzaldehydreaktion zugrunde liegenden Körpers und den Chemismus dieser Reaktion aufzuklären.

Er konnte zunächst zeigen, daß der Dimethylamidobenzaldehyd eben vermittels seiner Aldehydgruppe sich an die farbstoffbildende Substanz des Harnes bindet. Versetzt man vor dem Zusatz des Dimethylamidobenzaldehyds den Harn mit Formaldehyd, so bleibt die Reaktion aus, weil die mit dem Aldehydrest reagierende Gruppe durch Formaldehyd verstopft ist.

Pröscher stellte, indem er die Frage offen ließ, ob die Aldehydgruppe des Dimethylamidobenzaldehyds mit einer Methylengruppe oder mit einer Aminogruppe der farbstoffgebenden Substanz reagierte, für den Verlauf der Reaktion folgende Gleichung auf:

$$C_6H_4 . N . (CH_3)_2 . COH + H_2X = C_6H_4 . N(CH_3)_2 . CHX + H_2O.$$

Pröscher versuchte ferner Aufschluß über die Natur des die Reaktion gebenden Körpers durch die Isolierung des bei der Reaktion gebildeten Farbstoffs zu gewinnen, wobei er den Harn von Kranken, die an Typhus, Phthise, chronischen Enteritiden litten, der die Reaktion in verstärktem Maße gab, verarbeitete.

Der mit Dimethylamidobenzaldehyd und etwas konzentrierter Salzsäure versetzte Harn blieb einige Zeit stehen, alsdann wurde der rote Farbstoff nach Sättigung mit Ammonsulfat durch Chloroform extrahiert. Nach weiterer Reinigung wurde schließlich der Farbstoff gewonnen und zur Analyse gebracht.

In der gleichen Arbeit wurde auch zuerst das charakteristische Absorptionsspektrum des roten Farbstoffs an der Hand einer Untersuchung von Formanek beschrieben.

In einer Arbeit von Böhme[13a]) fand die Dimethylamidobenzaldehyd-

[12]) Med. Woche, Nr. 15. **1901** [*73*].
[13]) Zeitschr. f. physiol. Chem., **XXXI**, 520, **1901** [*505*].
[13a]) Centralbl. f. Bakt., **XL**, 129, **1905** [*301*].

rektion als gut brauchbare Indolreaktion Übertragung auf die Zwecke der Bakteriologie.

Die erste Anwendung der Reaktion auf ein ausgedehntes klinisches Material geschah auf Veranlassung Ehrlichs durch Clemens (Deutsch. Arch. f. klin. Med., LXXI, 168, 1901) an der Freiburger medizinischen Klinik.

In Übereinstimmung mit Ehrlich und Proescher fand Clemens, daß im normalen Harn die Reaktion nur schwach ausgebildet ist. Die starke Reaktion, die er in 19% der von ihm untersuchten Krankheitsfälle fand, ist nach ihm stets pathologisch.

Keine bestimmte Krankheitsart zeigt in allen Fällen die Reaktion, und bei fast keinem Patienten war sie konstant zu finden, sondern meist nur zeitweise und an Intensität wechselnd.

Am häufigsten konnte Clemens die Reaktion bei akuten Magen-Darmaffektionen konstatieren: die akuten Gastroenteritiden des Sommers zeigten sie in dreiviertel der Fälle.

Weniger häufig trat die Reaktion bei Lungentuberkulose ein.

Clemens konnte auch zeigen, daß normale und pathologische Fäces eine starke blaurote Reaktion mit D. geben, lehnt aber ausdrücklich einen Zusammenhang der Reaktion mit der Indikanreaktion im Harne ab.

Pappenheim (Berl. klin. Wochenschr., S. 42, 1903) bemerkte zuerst, daß die Reaktion überall dort zustande kommt, wo Urobilin im Harn vorhanden ist, und bezeichnete die Ehrlichsche Aldehydreaktion direkt als Urobilinreaktion, wenn auch mit der Einschränkung, daß nicht das Urobilin selbst, sondern ein Chromogen der reagierende Körper sei.

Einen sehr wesentlichen Fortschritt bedeutete die Feststellung O. Neubauers (Münch. med. Wochenschr., S. 846, 1903), daß für das Auftreten der Reaktion im Harn die Urobilinogene des Harns verantwortlich zu machen sind.

Demzufolge gibt auch das Hämopyrrol eine starke Reaktion.

In ikterischen Harnen fand Neubauer die Reaktion regelmäßig stark positiv. Nur beim Vorhandensein eines absoluten Hindernisses der Gallensekretion in den Darm fiel sie negativ aus. Neubauer betrachtete daher das Ausbleiben der Aldehydreaktion bei gleichzeitiger Anwesenheit von Gallenfarbstoff im Harn als ein sicheres diagnostisches Zeichen für das Bestehen eines vollständigen Hindernisses für den Gallenabfluß, da ja die Umwandlung des Bilirubins in Urobilin resp. Urobilinogen im Darm erfolgt.

Die Aldehydreaktion der Fäces führt Neubauer zum Teil auf Indol, zum Teil auf Urobilinogen zurück; nach Entfernung des Indols und Skatols mit Petroläther ist das Ehrlichsche Reagens zum Nachweis von Urobilinogen in Fäces brauchbar (vgl. hierzu: Kimura, Deutsch. Arch. f. klin. Med. LXXIX, 274, 1904).

Die Dimethylamidobenzaldehydreaktion der Eiweißkörper ist nach Neubauer auf den darin enthaltenen Indolkern zurückzuführen.

Den Befund Friedrich Müllers, daß Pentaacetylglukosamin nach Alkalibehandlung die Dimethylamidobenzaldehydreaktion gibt, glaubte Neubauer durch die Bildung von Pyrrolringen unter der Einwirkung des Alkalis erklären zu können.

Zu ganz ähnlichen Ergebnissen gelangte auch Richard Bauer (Centralbl. f. innere Med., S. 833, 1905). Dieser Autor konnte insbesondere auch dartun, daß durch oxydative Einwirkungen, durch die bekanntlich das Urobilinogen in Urobilin umgewandelt wird, die positive Ehrlichsche Reaktion zum Verschwinden gebracht wird, und stellte einige weitere wichtige Einzelheiten fest.

Eine sehr vollständige Schilderung des damaligen Standes der Kenntnis der Dimethylamidobenzaldehydreaktion gab K. Thomas (Z. f. klin. Med., LXIV, 247, 1907).

Für die quantitative Bestimmung des Urobilins und Urobilinogens machte Charnass (Bioch. Z., XX., 401, 1909) die Dimethylamidobenzaldehydreaktion nutzbar. Das Urobilin wird hierbei durch alkalische Harngärung in Urobilinogen übergeführt und das so gebildete Urobilinogen nach Kuppelung mit Dimethylamidobenzaldehyd auf spektrophotometrischem Wege bestimmt.

War durch die bisher geschilderten Untersuchungen der Nachweis geführt, daß als wesentlicher Träger der Dimethylamidobenzaldehydreaktion im Harn das Urobilinogen anzusehen ist, so lieferten über den Chemismus dieser Reaktion namentlich die Untersuchung Hans Fischers (Zeitschr. f. phys. Chemie, LXXV, 232, 1911) weitere wertvolle Aufschlüsse.

### c) Mikrochemische Glykogenuntersuchungen.

1883 veröffentlichte Ehrlich in der Zeitschrift für klinische Medizin[14]) als Teil einer größeren Diabetesarbeit Frerichs', an dessen Klinik er damals Oberarzt war, einen neuen mikrochemischen Nachweis von Glykogen. Diese Methode, als Jodgummimethode heute noch vielfach histologisch verwandt, stützte sich auf die Beobachtung, daß Glykogen zwar mit einer wässerigen Jod-Jodkalilösung sich tiefbraun färbt, andererseits aber so leicht in Wasser löslich ist, daß es sich schnell durch Diffusion dem Nachweis entzieht. Setzt man jedoch zu der Lugolschen Lösung irgendeine Flüssigkeit hoher Viskosität, so verliert sie die Fähigkeit, Glykogen aufzulösen.

Ehrlich versetzte daher die Jod-Jodkalilösung mit Gummi arabikum bis zur syrupösen Beschaffenheit und vermied es auch vorher, die mikroskopischen Schnitte, die auf Glykogen untersucht werden sollten, mit Wasser in Berührung zu bringen. Man erhält auf diese Weise aus alkoholfixierten Schnitten Dauerpräparate, in denen sich das mahagonibraune Glykogen vom hellgelben Allgemeinton scharf abhebt.

Mit dieser Methode ausgestattet, ging Ehrlich nunmehr an die mikroskopische Untersuchung des Glykogengehalts diabetischer Organe, um über die auch heute noch im Brennpunkte des Problems stehende Frage nach der Glykogenfixation beim Diabetes Aufschlüsse zu erhalten. Die Ergebnisse sind in derselben Arbeit niedergelegt.

[14]) Zeitschr. f. klin. Med., **VI**, 33, **1883** [*20*].

Ein wichtiger und konstanter Befund wurde zunächst an den Nieren erhoben, der, für Diabetes pathognomonisch, bei keinem an einer anderen Krankheit verstorbenen Falle sich fand. Schon früher hatte man an diabetischen Nieren hyalinverquollene Zellen beobachtet, besonders reichlich am Isthmus der Henleschen Schleifen. Ehrlich konnte mit seiner Jodgummimethode nachweisen, daß diese angeblich leeren Zellen vollgepfropft mit Glykogen waren, das sich in Schollen, Kugeln und Tropfen in ihnen ablagert. Gesunde, vergleichsweise untersuchte Nieren enthalten Glykogen in viel geringerer Ausdehnung, an anderen Abschnitten und durch seine Anordnung an Ort und Stelle (Fehlen einer Membranbildung) vom typischen Diabetesbefund unterschieden. Das Amyloid in der Niere färbt sich nach obiger Methode schön orange.

In den Lebern der untersuchten Fälle wurde kein oder nur unbedeutend wenig Glykogen gefunden; doch werden auch Ausnahmen von diesem Verhalten erwähnt. Pankreas, Milz, Lymphdrüsen und Knochenmark erwiesen sich ebenso wie in normalen Fällen als glykogenfrei. Das Glykogen, das sich im Herzmuskel fand, war kein für Diabetes spezifischer Befund. Dieser Befund ließ sich in allen Fällen von Herzerkrankungen erheben, die mit starkem Verlust und Neubildung von Muskelfasern einhergehen. Der Glykogenbefund an anderen Organen (Knorpelgewebe und Plattenepithel) unterschied sich in keiner Weise von dem bei normalen Verhältnissen.

Dagegen schien es, als ob an Pneumonie verstorbene Diabetiker in den infiltrierten Stellen des Lungenparenchyms regelmäßigere und zahlreichere Glykogenablagerungen aufwiesen, als man sie gewöhnlich in pneumonischen Lungen findet.

Daß aber überhaupt in entzündeten Organen Glykogen auftritt, legte die Frage nahe, ob dieses nicht mit den weißen Blutkörperchen dahin gelange. Man findet zuweilen in Leukocyten Glykogentröpfchen, die mitunter in die freie Blutbahn ausgestoßen werden. Diese Erscheinung zeigte sich besonders stark bei Leukocyten, die auf einen entzündlichen Reiz hin die Gefäße verlassen hatten. So erklärt sich das Auftreten von Glykogen im infiltrierten Gewebe.

Bei diesen tatsächlichen Feststellungen blieb Ehrlich nicht stehen. Über sie hinaus suchte er tiefer in die biologische Verarbeitung des Glykogens innerhalb der Zelle einzudringen. Er untersuchte dazu glykogenreiche Lebern von mit Zucker gemästeten Kaninchen mit den verschiedensten Färbemitteln und gleichzeitig mit seiner Jodgummimethode. Die so erhaltenen Bilder führten ihn zu der Anschauung, daß das Glykogen dem passiven Teile der Zelle, dem Paraplasma, gleichmäßig einverleibt ist, während das eigentlich funktionierende Protoplasma, in

der Leberzelle Kern und fibrilläres Netzwerk mit den stark färbbaren Mikrosomen, im Muskel die kontraktile Muskelzelle, diesen Reservestoff nicht enthält. Da aber doch offenbar das Glykogen aus spezifischer Zelltätigkeit aufgebaut, zunächst dem Protoplasma entstammt, so lassen sich auch die verschiedenen Stufen dieses Aufbaues noch in der Zelle erschließen. Ehrlich fand nämlich, daß sich keineswegs alles Glykogen gleichmäßig mit Jod-Jodkali färbt, sich auch nicht einheitlich unlöslich Alkohol und löslich Wasser gegenüber verhält, sondern, daß da schon innerhalb einer Zelle, besonders aber an den verschiedenen Stellen des Organismus beträchtliche Unterschiede auftreten.

Daraus schließt Ehrlich, daß das Glykogen „solidarisch" mit einer Trägersubstanz vereinigt ist. Ob sie seine Kohlehydratvorstufen oder seine eiweißartigen Generatoren darstellen, läßt er unentschieden. Diese Trägersubstanz kann auch allein vorkommen und läßt sich besonders bei den schon erwähnten diabetischen Nieren, wie aus den zahlreichen beigegebenen farbigen Abbildungen hervorgeht, als rein gelb färbbare Substanz nachweisen, im Gegensatz zum Glykogen, das, wie schon erwähnt, mit der Jodgummimethode tiefbraun erscheint. Gerade auf der Unabhängigkeit dieser Methode von den Lösungsbedingungen der Glykogenträger beruht ihre allgemeine und zweckmäßige Anwendbarkeit.

Diese bedeutsame Frage nach der Löslichkeit der Glykogenfixatoren speziell in der Leberzelle wurde auf Ehrlichs Anregung hin von Einhorn bearbeitet. Selbständig publiziert sind die Versuche nicht. Ehrlich erwähnt sie nur in einer kurzen Bemerkung[15]). Danach bewahren Hungerfrösche ihren mikroskopisch nachweisbaren Glykogengehalt der Leber, auch wenn man sie in reinem Wasser hält. Er nimmt nicht zu, wenn man die Tiere in reine Traubenzuckerlösung bringt. Setzt man dagegen zu dieser Lösung gewisse Mengen Säure, so verschwindet das Glykogen; es nimmt dagegen erheblich zu, wenn man die Traubenzuckerlösung durch Soda alkalisch macht.

Diese Befunde hat auch Frerichs in sein Diabeteswerk („Über den Diabetes", Berlin 1884, S. 263) aufgenommen. Dort finden sich auch (S. 272) Untersuchungen Ehrlichs über den Glykogengehalt der Leber beim Lebenden. Er fand in kleinen Leberstückchen, die er mittels eines feinen Troikards entnommen hatte, 4½ bis 5½ Stunden nach der Mahlzeit beim Nichtdiabetischen reichlich Glykogen. Von zwei untersuchten Diabetikern erwies sich bei einem die Leber als fast glykogenfrei, bei dem zweiten fand sich etwas Glykogen, mehr aber noch von der schon besprochenen, sich mit Jod gelb färbenden Trägersubstanz.

[15]) Pflügers Archiv, **LXXI**, 236, **1908** [*104*].

Unter Ehrlichs Leitung ist dann die Jodgummimethode in ausgedehnten Untersuchungen benutzt worden, über welche zunächst in einer Dissertation von O. Meyer[16]) berichtet wurde. Meyer untersuchte den Glykogengehalt embryonaler und jugendlicher Organe. Beim Hühnerembryo zeigte sich erst am 8. Tage ein glykogenhaltiger Streifen im Gehirn. Bei allen untersuchten Embryonen (Huhn, Kaninchen, Maus, Mensch) gelang es, Glykogen in Form von „fest konturierten Gebilden" in geringer Menge aufzufinden. Außer im Gehirn war auch im Rückenmark Glykogen nachzuweisen, besonders dicht am Sinus rhomboideus. Beim Kaninchenembryo gelang im Gegensatz zu dem Verhalten der Hühnerembryonen der Glykogennachweis auch am Plexus chorioideus. Von besonderem Interesse war die übereinstimmende Auffindung eines glykogenhaltigen Streifens genau in der Medianlinie durch die ganze Medulla oblongata bis zum Mittelhirn reichend, der niemals auf das Rückenmark übergriff. Meyer betrachtet diesen Glykogenstreifen, der in postembryonalen Gehirnen nicht mehr nachweisbar war, als ein Verwachsungsphänomen. Von weiterem Interesse sind die Untersuchungen, welche Ernst Neißer[17]) in seiner Dissertation niederlegte. Zunächst wurde nach einer kleinen Modifikation der Methode festgestellt, daß sich in den Epithelzellen der äußeren Haarwurzelscheiden reichlich Glykogen nachweisen läßt. Dann untersuchte E. Neißer auf Ehrlichs Anregung hin in großem Maßstabe die Wirkung verschiedenster organischer Präparate, besonders solcher giftiger Natur, auf den Glykogengehalt der Leber. Als Objekt für den mikroskopischen Nachweis mittels Ehrlichs Jodgummimethode wählte E. Neißer Schnitte aus Lebern von Mäusen, die vorher mit den betreffenden Stoffen gefüttert waren. Im ganzen wurden 80 verschiedene Substanzen geprüft.

In den meisten Lebern, 98 von 130, ließ sich überhaupt kein Glykogen mehr nachweisen, besonders bei den Tieren, die auf die Giftwirkung hin unter längerer Agone gestorben waren, wodurch der Glykogenschwund ungezwungen erklärt ist. Da auch sehr viele Tiere an Inanition zugrunde gingen, verzichtet E. Neißer, aus dem Fehlen von Glykogen bei einer Vergiftung, besonders wenn das Tier an ihr gestorben war, irgendwelche Schlüsse zu ziehen. Auffallend ist immerhin das Fehlen von Leberglykogen bei mit vollem Magen gestorbenen, also wohl kaum verhungerten Tieren, die mit Phloridzin, Cumarin, Coniferin und Cocain vergiftet waren. Daß diese Gifte wirklich die Leber ihres Glykogens berauben, ließ sich bei Anwendung nicht tödlicher Dosen und nachheriger absichtlicher Tötung der

[16]) I.-D. Berlin **1884** [*439*].
[17]) I.-D. Berlin **1888** [*464*].

Tiere beweisen. Dagegen wirkte Morphium, Amygdalin und Mytilotoxin erhaltend auf das Leberglykogen, trotzdem die Tiere an der Vergiftung starben.

Bei den im Versuch absichtlich getöteten Tieren wirkten außer den oben genannten Stoffen und selbstverständlich außer verfütterten Kohlehydraten besonders deutlich glykogensteigernd: Ichthyol und Erythrophlein. Andererseits wirkten glykogenzerstörend, ohne das Allgemeinbefinden der Tiere im geringsten zu beeinflussen: Papain, Coniferin, Cumarin, Phloridzin und Asparagin in großen Dosen. In kleinen Dosen wirkt Asparagin glykogenanhäufend.

Sehr eingehend wurde die zerstörende Wirkung des Phloridzins auf das Leberglykogen untersucht, eine Feststellung, die im Einklang mit früheren Arbeiten wichtige Aufschlüsse über das Wesen des Phloridzindiabetes geliefert hat.

---

Wenn in den vorstehenden Ausführungen die Arbeiten Ehrlichs auf dem Gebiete der physiologischen Chemie besprochen wurden, so sei zum Schluß hervorgehoben, daß diese Besprechung keinerlei Anspruch auf Vollständigkeit erheben darf*). Die Arbeiten Ehrlichs knüpfen so vielfältig an physiologisch-chemische Methoden an und wurzeln vor allem so fest in der chemischen Betrachtung vitaler Vorgänge, daß wohl die meisten Untersuchungen dieses Forschers in engster Beziehung zur physiologischen Chemie stehen. Die Auswahl der Arbeiten für das vorliegende Kapitel wurde daher zum Teil nach mehr äußeren Gesichtspunkten getroffen. Zahlreiche Fragen biochemischer Art, die Ehrlich aufgeworfen und experimentell bearbeitet hat, werden in anderen Abschnitten dieses Buches behandelt.

*) Verwiesen sei an dieser Stelle noch auf den im Ehrlichschen Institut von Bechhold[18]) erhobenen eigenartigen Befund, daß die Nylandersche Reaktion auf Traubenzucker durch die Anwesenheit von Quecksilber und Chloroform im Harn stark gehemmt oder völlig verdeckt sein kann.

[18]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, **XLVI**, 371, **1905** [252].

6.

# Desinfektion.

Von

**H. Bechhold,**

Frankfurt a. M.

Anfang der neunziger Jahre hatten die Studien Paul Ehrlichs über die Färbung der Gewebe scheinbar ihren Abschluß gefunden. Schon war der Forscher daran, weitgehende Schlüsse aus seinen färberischen Erfahrungen zu ziehen, als die Immunitätsfragen ihn zunächst ganz zu absorbieren begannen.

Unter seiner Hand hatten scheinbar homogene Gewebe die verschiedenartigsten Färbungen angenommen. Aus Farbstoffgemischen hatten sich die Granula der Leukocyten die ihnen adäquaten Farben herausgeholt, und es war so eine Klassifikation der weißen Blutkörperchen ermöglicht worden. — Die Fülle dahingehender Beobachtungen zwangen Ehrlich zu der Annahme spezifischer Färbungen, zu der Überzeugung, daß bestimmte Gewebselemente eine spezifische Affinität zu bestimmten Farbstoffen haben, und daß es gelingen müsse, gewissermaßen jeden Gewebebestandteil in eigentümlicher Weise zu färben, wenn man nur den passenden Farbstoff dazu findet.

Und nun kam der große geistige Schritt: er sagte sich: so wie bestimmte Zellen und Zellelemente bestimmte Farbstoffe in sich speichern, so müssen sie auch Gifte in sich aufnehmen können, die ihren Tod herbeiführen. Dies wurde die Grundlage von Ehrlichs chemotherapeutischen Versuchen.

Hierzu aber kam noch ein zweites Prinzip: das der Verteilung, eine Erkenntnis, die Ehrlich ebenfalls seinen Farbstoffstudien verdankt. Mit aller Prägnanz finden wir die Anschauungen des Forschers niedergelegt in dem Vortrage: „Über die Beziehungen von chemischer Kon-

stitution, Verteilung und pharmakologischer Wirkung“ [1]). — Ich will die betreffende Stelle hier zitieren:

„Injiziert man Kaninchen verschiedene Farbstoffe, so liefert schon die makroskopische Betrachtung die interessantesten Bilder. Farbstoffe, die nur ein einziges bestimmtes Organ (z. B. das Fettgewebe) tingieren, und die ich als monotrope bezeichne, kommen, wenn auch selten, vor, während für gewöhnlich ein Farbstoff zu einer Mehrheit von Organsystemen Verwandtschaft hat, jedoch häufig so, daß ein ganz bestimmtes Organ in ganz besonders hervorragender Weise gefärbt wird.“

Und am Schluß des Aufsatzes, in welchem Ehrlich dann die praktischen Konsequenzen aus seinen Darlegungen zieht, schreibt er:

„Will man Organtherapie in diesem Sinne treiben, so wird man zuerst solche Körperklassen aufsuchen, die zu einem bestimmten Organ eine besondere Verwandtschaft haben. Hat man solche Körperklassen aufgefunden, so wird man sie sozusagen als Lastwagen benutzen können, um therapeutisch wirksame Gruppen dem betreffenden Organ zuzuführen.“

Die Keime zur praktischen Anwendung der oben dargelegten Ideen auf die Infektionserreger finden sich bei Ehrlich fast gleichzeitig mit seinen färberischen Studien. Er sagte sich etwa folgendes: bestimmte Farbstoffe haben eine spezifische Affinität zu gewissen Zellen und vermögen, falls sie eine toxophore Gruppe besitzen, jene Zellen zu töten. Diese Zelle muß jedoch nicht dem eignen Organismus angehören, sie darf auch körperfremd, ein Protozoon, ein Bazillus sein. Gelingt es Stoffe zu finden, deren Verteilung eine günstige ist, d. h. die hauptsächlich von der fremden Zelle aufgenommen werden, so wird diese geschädigt, ohne daß der Träger der Infektion mitgetötet wird. — So dachte sich Ehrlich eine Bekämpfung der Infektionserreger, eine Therapie der Infektionskrankheiten. — Den ersten Versuch in dieser Richtung finden wir bereits im Jahr 1891. Ehrlich und P. Guttmann [2]) veröffentlichten Beobachtungen, nach denen Methylenblau eine ausgesprochene Wirkung gegen Malaria entfaltet.

Versuche großen Stils in dieser Richtung begannen jedoch erst um die Jahrhundertwende. Von zwei Seiten faßte Ehrlich das Problem an, und jede der Problemstellungen erfolgte in eigenartiger Weise. Er machte Versuche mit Protozoen und mit Bakterien. In den Trypanosomen fand er ein geeignetes Versuchsobjekt, das Mäuse in 3—4 Tagen tötet, und dessen Vermehrung sich im Blut der infizierten Tiere aufs schärfste verfolgen läßt. Da sich pathogene Protozoen damals noch nicht in vitro züchten ließen, so ging Ehrlich sogleich zu inneren Des-

[1]) v. Leyden-Festschrift, Bd. I, Berlin **1902** [*76*].
[2]) Berliner klin. Wochenschr., H. 39, **1891** [*179*].

infektionsversuchen über, indem er die Tiere mit Farbstoffen behandelte. „Die Auffindung neuer Arzeneien geht über die Farbstoffe" hat mir damals Ehrlich oft wiederholt. Er war unermüdlich im Ausfindigmachen immer neuer Farbstoffe. Die Ergebnisse dieser Versuche mit seinen Mitarbeitern Shiga und Franke werden von anderer Seite behandelt (vergl. F, 2).

Bei der Kostspieligkeit dieser Versuche durch das benötigte große Tiermaterial mußte es bei den damaligen beschränkten Mitteln willkommen sein, in den Bakterien Objekte zu besitzen, deren Wirkung gegen Desinfektionsmittel sich auch in vitro prüfen läßt. Verfasser dieser Zeilen wurde von Ehrlich mit dieser Aufgabe betraut. Der Kriegsplan lautete etwa folgendermaßen: es sind chemische Substanzen ausfindig zu machen, die bei höchster Desinfektionswirkung von geringster Giftigkeit für den tierischen Organismus sind. — Ich muß jene Zeiten, in welchen ich in täglichem Kontakt mit dem Forscher arbeitete, zu den anregendsten meines Lebens zählen. Nicht genug bewundern kann ich die Findigkeit, mit der Ehrlich stets neue Substanzen sich zu beschaffen wußte, die Zähigkeit, mit der er einen kleinen Erfolg sicherstellte, die Elastizität, mit der er einen toten Punkt zu überwinden wußte, über den ein anderer nicht hinweggekommen wäre. Zu Hilfe kommt ihm ein Ideenreichtum, der zuweilen phantastisch anmutet, und der, wo es darauf ankommt, doch nicht den Boden unter den Füßen verliert.

Als Versuchsobjekt diente zunächst der Diphtheriebazillus, der leicht zu züchten ist, und dessen Infektionseigenschaften gut kontrollierbar sind. In Anschluß daran wurden auch andere pathogene Bakterien und Kokken geprüft. Im Gegensatz zu den üblichen Methoden der Untersuchung von Desinfektionsmitteln wurde die „Minimalabtötung" bestimmt, d. h. das minimale Quantum eines Desinfektionsmittels, das binnen 24 Stunden eine Diphtheriebazillen-Bouillonkultur abzutöten vermag. — Die Abtötung wurde in der Weise bestimmt, daß eine Öse der mit einer chemischen Substanz behandelten Kultur auf frischen Agar überimpft wurde. Erwies sich unter diesen Bedingungen ein Desinfiziens als wirksam, so wurde durch schärfere Methoden das Ergebnis sichergestellt. — Mit dieser Methode wollte Ehrlich die Vorgänge im Tierkörper möglichst getreu nachahmen; er ging dabei stets von dem Gedanken aus: wenn auch einige Keime leben bleiben, schadet es nichts; die fallen den Antikörpern und Phagocyten zum Opfer.

Als Ausgangspunkt für die Desinfektionsmittel wurden die Phthaleïne gewählt, deren Halogenprodukte und Oxime sich als hochwirksame

Desinfektionsmittel erwiesen. Bei weiterer Variation der chemischen Gruppen ergaben sich sehr interessante Gesetzmäßigkeiten, deren Hauptpunkte sich in folgendem zusammenfassen lassen (cf. Bechhold und Ehrlich[3]): Einführung von Halogenen (Cl, Br) in Phenole steigert die Desinfektionskraft, ebenso Alkylgruppen; Einführung von $CO_2H$ in den Kern vermindert die Desinfektionskraft. Verbindet man Phenole durch Brücken, so kann man ebenfalls die Desinfektionskraft verändern: $CH_2$—, CHOH—, $CHOCH_3$— oder $CHOC_2H_5$— sind günstige Brücken; CO— und $SO_2$ hingegen ungeeignete. Dioxydiphenylmethan, Dioxydiphenylcarbinol, Dioxydiphenylmethoxymethan, Dioxydiphenyläthoxymethan sind somit in ihren Bromverbindungen weit stärkere Desinfizientia, als die entsprechenden Bromphenole, während das Tetrabromdioxybenzophenon und das Tetrabromdioxydiphenylsulfon nur geringe Desinfektionswirkung besitzen. — Im Verfolg dieser Untersuchungen waren einige Substanzen gefunden worden, die alle bisher bekannten organischen Desinfektionsmittel weit übertrafen. Es seien erwähnt das Tetrabrom-o-kresol $C_6Br_4CH_3OH$, das Tetrachlor- und Tetrabrom-o-biphenol $OHC_6H_2Cl_2 — C_6H_2Cl_2OH$ und $OHC_6H_2Br_2 — C_6H_2Br_2OH$, sowie das Hexabromdioxydiphenylcarbinol $OH \cdot C_6HBr_3—CHOH—C_6HBr_3OH$, die sämtlich bei Diphtheriebazillen eine Minimalabtötung von 1 : 320000 aufweisen, d. h. in einer 320000fachen Verdünnung Diphtheriebazillen in 24 Stunden abzutöten vermögen. Da die Giftigkeit dieser Substanzen sich als sehr gering erwies, so hätte theoretisch ein Heilerfolg erzielt werden müssen, indem bereits weniger als der hundertste Teil genügt haben würde, die Bakterien in vitro binnen 24 Stunden abzutöten. In Wahrheit aber versagten alle diese Substanzen im Tierversuch. Bereits im Reagenzglasversuch zeigte sich, daß die Desinfektionswirkung all dieser Stoffe in Serum außerordentlich herabgesetzt wird. —

Ein Jahr später (1907) hatte Verfasser seine Methode der Ultrafiltration[4]) soweit ausgebildet, daß er der Ursache jenes Versagens nachgehen konnte. Die Ultrafiltration ermöglicht die Trennung der Kolloide von den echten Lösungen. Wurde Serum, welches jene Desinfektionsmittel enthielt, ultrafiltriert, so erwies sich der größte Teil an die Serumkolloide gebunden und nur ein für die Abtötung der Bakterien ungenügender Bruchteil des Desinfiziens blieb in der Lösung disponibel (cf. Bechhold[5]).

Jene Veröffentlichung über „Chemische Konstitution und Desinfektionswirkung“ erregte bald die Aufmerksamkeit der Praxis. Das

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, **XLVII**, 173; **1906** [*159*].
[4]) Zeitschr. f. physikal. Chemie, **LX**, 257; **1907** [*255*].
[5]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, **LII**, 177; **1907** [*256*].

Monochlorkresol, welches auf Grund der Untersuchungen von K. Laubenheimer wegen seiner höheren Wirkung im Begriff ist, das Kresol als grobes Desinfiziens zu verdrängen, ist wohl die erste Frucht, welche der Allgemeinheit aus jener Untersuchung zufiel.

Verfasser dieser Zeilen hat dann am Ehrlichschen Institut jene Untersuchungen weiter verfolgt, indem er unter Verzicht auf innere Desinfektion nach äußeren Desinfizientien suchte, welche wirksamer, weniger giftig und billiger als die bisherigen sind[6]). Bei Studien über die Halogennaphthole fielen dabei dem Verfasser Erscheinungen auf, für die Ehrlich den Ausdruck „halbspezifische Wirkungen" vorschlug. Es handelt sich dabei um folgendes: Führt man in die Naphtholmolekel sukzessive 1, 2 usf. Brom- bzw. Chloratome ein, so steigt die Desinfektionswirkung bis zu einem Maximum, um dann meist wieder zu sinken; diese Wirkung ist jedoch für verschiedene Mikroorganismen eine ganz verschiedene. Ein Beispiel mag dies erläutern. Naphthol hat gegen Staphylokokken eine molekulare Desinfektion von 375, d. h. wenn man zur Entwicklungshemmung einer bestimmten Bakterienmenge 1000 Molekeln Kresol braucht, so sind zu dem gleichen Effekt nur 375 Molekeln $\beta$-Naphthol erforderlich, oder 91 Molekeln Monochlor-$\beta$-Naphthol, oder 72 Molekeln Monobrom-$\beta$-Naphthol usf. Die Wirkung erreicht ihr Maximum bei Tribrom- und Tetrabrom-$\beta$-Naphthol mit einer molekularen Desinfektion von nur 3,4 bzw. 2,8, fällt aber bei Pentabrom-$\beta$-Naphthol wieder auf 12. — Macht man die Versuche jedoch z. B. an Bacterium coli, so findet man, daß das Maximum bereits bei Dibrom-$\beta$-Naphthol erreicht wird. Und zieht man gar Paratyphus heran, so ist überhaupt kein Maximum zu bemerken: die verschiedenen Halogennaphthole haben angenähert gleiche Wirkung, die mit Einführung einer größeren Zahl von Halogenen sehr langsam abfällt. — Wir erkennen daraus, wie treffend der Ausdruck halbspezifisch ist, denn alle diese untersuchten Halogennaphthole haben eine Desinfektionswirkung, aber eine gewisse Spezifität springt in die Augen. Weitere Untersuchungen des Verfassers in dieser Richtung, welche noch nicht veröffentlicht sind, haben dies noch viel stärker beleuchtet, wie folgendes Beispiel erläutern mag. Wie schon erwähnt besitzt Tribromnaphthol eine sehr hohe Desinfektionskraft gegen Staphylokokken, Streptokokken und Diphtheriebazillen, während es gegen Pyocyaneus sehr wenig wirksam und gegen den Tuberbelbazillus absolut unwirksam ist. — Vergleichen wir damit das Monochlornaphthol;

[6]) Zeitschr. f. Hygiene, **LXIV**, 113; **1909** [*260*].

es ist zwar gegen Staphylokokken weit kräftiger als Kresol, erreicht aber bei weitem nicht die Wirkung des Tribromnaphthols.

Es verhält sich die molekulare Desinfektion gegen Staphylokokken wie

| | |
|---|---|
| Kresol | 1000 |
| Monochlornaphthol | 91 |
| Tribromnaphthol | 3,3. |

Gegen Pyocyaneus und Tuberkelbazillus erweist sich hingegen das Monochlornaphthol als ein starkes Desinfektionsmittel.

Eine Reihe von Arbeiten, neben deren hervorragender Wichtigkeit für die Chemotherapie der Infektionskrankheiten auch ihre Bedeutung für die Beurteilung von Desinfektionsmitteln nicht übersehen werden darf, sind auf die chemotherapeutischen Versuche Ehrlichs zurückzuführen. Wie an anderer Stelle dargelegt wird, hat Ehrlich gezeigt, daß Trypanosomen und Spirillen arzeneifest werden können. Daß ähnliche Erscheinungen auch bei Bakterien auftreten können, hat L. H. Marks[7]) an einem Paratyphusstamm der Hog-Choleragruppe gezeigt, der auf einem arsenigsäurehaltigen Agar gezüchtet wurde. Nach 3 Jahren wurde eine Kultur erzielt, die auf einem Agar mit 1 : 3500 arseniger Säure wuchs, während der Ausgangsstamm nur bei 1 : 27000 gerade Wachstum zeigte. Jener Stamm war auch gegen Antimon fest geworden, bewahrte seine Arsenfestigkeit mit großer Zähigkeit und zeigte auch verschiedene andere biologische Eigentümlichkeiten.

Viel in die Augen springender noch sind die Versuche, welche J. Morgenroth und M. Kaufmann, sowie aus Ehrlichs Laboratorium Shiga kürzlich publizierten. Die Versuche von Morgenroth und Kaufmann (Zeitschr. f. Immunitätsf. XV, 610, 1912) beziehen sich auf zwei Pneumokokkenstämme, die bereits in 8 Tagen bei nur vier Passagen durch Mäuse gegen Äthylhydrocuprein arzneifest wurden. Diese Eigenschaft bewahrten die Stämme monatelang sowohl in Tierpassagen, wie bei Konservierung im eingetrockneten Zustand. — J. Tugendreich und C. Russo (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. IXX, 167, 1913) zeigten dann, daß auch in vitro Pneumokokken gegen Äthylhydrocuprein fest werden, so daß ein Stamm, der durch eine Konzentration von 1 : 50000 in der Entwicklung gehemmt wurde, bereits nach 12 Tagen 1 : 500 ertrug. Shiga[8]) züchtete Choleravibrionen in ver-

[7]) Zeitschr. f. Immunitätsforsch., **VI**, 293; **1910** [*425*].
[8]) Ebenda, **XVIII**, 65; **1913** [*585*].

schiedenen verdünnten Farbstofflösungen und brachte die überlebenden Bakterien in immer konzentriertere Lösungen desselben Farbstoffs. Auf diese Weise vermochte er Stämme zu züchten, die bereits in der 12. bis 20. Generation bei Methylenblau das 20fache, bei Äthylviolett das 100fache usf. der Farbstoffdosen vertrugen wie der Ausgangsstamm. — Stämme, die gegen den einen Farbstoff fest waren, zeigten auch anderen Farbstoffen gegenüber eine erhöhte Festigkeit; auch läßt sich die Farbstofffestigkeit ungeschwächt weiterzüchten. Gegen die Serumwirkung sind jedoch solche Stämme zuweilen sogar weniger resistent. Diese Befunde sprechen von neuem für die Auffassung Ehrlichs, der dem Zellprotoplasma, also auch den Bakterien und Protozoen, besondere Angriffsstellen, Chemozeptoren, zuschreibt, an denen die Desinfektionsmittel ansetzen. Es sind dies offenbar andere Stellen, als die Nutrizeptoren, welche für den Stoffwechsel und auch für die Antikörper die Angriffsstellen bilden.

Hier möchten wir noch auf die Bedeutung jener Untersuchungen für die Prüfung von Desinfektionsmitteln hinweisen. Wie leicht kann es in einem Laboratorium vorkommen, daß Bakterien von überlebenden Stämmen weitergezüchtet werden, die wiederholt einem Desinfektionsmittel ausgesetzt waren. Wie leicht können sich hier Fehlerquellen einschleichen, die nur durch Kenntnis der Geschichte jenes Bakterienstammes vermieden werden.

F.

# Chemotherapie.

1.

# Einleitender Überblick.

## Salvarsan und Syphilis [1]).

Von

**A. Neisser,**

Breslau.

So großartig Paul Ehrlichs Entdeckungen sind, Ehrlich ist kein „Entdecker" im landläufigen Sinne. Nicht wie so mancher, der, während er das allgemeine Feld pflügte, plötzlich ein Goldkorn findet, oder wie der, dessen Hirn ein plötzlich erleuchtender Gedankenstrahl entflammt, welcher sich fassen und zu nutzbringender Form wandeln läßt — nicht so hat uns Ehrlich seine „Entdeckungen" geschenkt. Seine Taten sind vergleichbar denen eines Schützen, welcher seine Waffe, die Leistungen seiner Geschosse, die Wege, die sie nehmen müssen, genau kennt, und dessen Auge nur immer ein bestimmtes Ziel sieht, dessen Erreichung ihm Endzweck ist. Zuerst irren die Geschosse vielleicht ins Leere, aber immer enger wird der Kreis ihrer Bahn, immer größer die Zahl der Treffer, bis dann endlich, von der durch Beobachtung und Erfahrung gelenkten Hand des Schützen entsendet, der Meisterschuß ins Schwarze gelingt.

Nicht aus Zufallsentdeckungen setzt sich Ehrlichs Lebenswerk zusammen, sondern mühevoller, auf ein von vornherein ins Auge gefaßtes Ziel gerichteter, auf bestimmten Voraussetzungen aufgebauter Arbeit sind seine Erfolge zu danken. So gilt denn der Leitsatz, den er seiner Therapie vorangesetzt hat: **„Wir müssen zielen lernen"** nicht nur für diese, sondern auch in weiterem, größerem Sinne für sein gesamtes Schaffen.

[1]) Herrn Prof. Bruck danke ich auch an dieser Stelle für seine Unterstützung bei der Abfassung des ersten Teils.

Gerade aber in der Entwicklung der „Chemotherapie" kommt so recht das Methodische und Absichtliche der Ehrlich'schen Arbeitsweise zum Ausdruck. Denn sie ist die Krönung eigentlich all seiner Studien und Untersuchungen, beginnend mit den spezifischen Färbungen der Mastzellenkörnelung, mit der Verwendung des Methylenblaus für vitale Färbungen, der Farbgemische für die Trennung der verschiedenen Blutzellen bis zur Feststellung, daß auch bestimmte Affinitäten zwischen Chemikalien und Einzelzellen resp. Parasiten bestünden und therapeutisch nutzbar gemacht werden könnten.

**„In systematischer Weise Heilmittel ausfindig machen, die sich als spezifisch gegen die Krankheitserreger gerichtet erweisen, ist die Hauptaufgabe der Chemotherapie."** Während im allgemeinen die pharmakologische Wissenschaft chemische Präparate nach ihren toxikologischen und physiologischen Funktionen prüfte, ihre ätiologisch-therapeutische Wirkung aber unbeachtet ließ, z. B. die Wirkung des Chinins auf den Magen oder die Niere gesunder Tiere studierte, nicht aber die Tätigkeit des Mittels im malariainfizierten Tierkörper verfolgte, also eigentlich nur „die leere Bühne" betrachtete, sieht Ehrlich als ein striktes Erfordernis der Chemotherapie ein Zusammenarbeiten von Chemie und biologischem Tierexperiment an. Auf diese Weise dürfen nicht nur symptomatischen Aufgaben dienende Pharmaka studiert, sondern es müssen durch methodische Versuche spezifische Substanzen gesucht werden. Der Weg wurde diesem Bestreben durch die Erfahrungen der Immunitätsforschung gezeichnet. Ebenso aber wie für die Immunitätslehre die in der Arbeit Ehrlich's aus dem Jahre 1885 „Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus" niedergelegten Anschauungen bahnbrechend geworden sind, so muß diese frühe Arbeit auch als der Ausgangspunkt für die chemotherapeutischen Studien gelten.

Diese Arbeit hatte zunächst den Zweck, die Oxydations- und Reduktionsorte des Organismus genau zu studieren. Zu diesem Zwecke untersuchte Ehrlich zunächst die Verteilungsart des Alizarinblaus bzw. seiner Natriumhyposulfitverbindung, die in Wasser löslich ist und bei Gegenwart von reduzierenden Substanzen in Alizarinweiß übergeführt wird. An die Alizarinblaustudien schlossen sich diejenigen mit dem noch leichter reduzierbaren Indophenolblau und mit Methylenblau (Zentralbl. f. d. med. Wiss., 1885). Wenn durch diese Versuche gezeigt werden konnte, wie man mit Hilfe bestimmter Farbstoffe die Reduktionskraft der lebenden, auf der Höhe ihrer normalen Funktion befindlichen Organe genauer bestimmen kann, und wie das lebende Protoplasma eine hohe Sauerstoffaffinität besitzt, so folgte für Ehrlich daraus, daß „das funktionierende Protoplasma gleichsam ein Janusgesicht besitzen muß, indem es einerseits durch Vermittlung seiner O-gesättigten Orte bestimmte Verbindungen oxydieren und andere Verbindungen mit Hilfe der

ungesättigten Gruppen reduzieren kann". „Wir dürfen annehmen, daß im lebenden Protoplasma ein Kern von besonderer Struktur die spezifische, eigenartige Zellleistung bedinge, und daß an diesem Kern sich als Seitenketten Atome und Atomkomplexe anlagern, die für die spezifische Zellleistung von untergeordneter Dignität sind, nicht aber für das Leben überhaupt. Alles weist darauf hin, daß eben die indifferenten Seitenketten es sind, die den Ausgangs- und Angriffspunkt der physiologischen Verbrennung darstellen, indem ein Teil von ihnen die Verbrennung durch O-Abgabe vermittelt, der andere hierbei konsumiert wird."

Die sich schon aus diesen Untersuchungen ergebenden Ansichten über den Leistungskern des Protoplasmas, die mit verschiedenen Funktionen ausgestatteten Zellrezeptoren, ihre Bindungsfähigkeit einerseits, die chemische Avidität bestimmter Substanzen andererseits, bilden nicht nur die Basis der so ungemein befruchtenden Seitenkettentheorie, sondern legen auch den Grund zu den chemotherapeutischen Arbeiten Ehrlichs bei solchen Krankheiten, bei denen die praktischen Ergebnisse der Immunitätslehre nicht ausreichend waren.

Während aber die geheimnisvolle Werkstatt des Organismus jene **„Zauberkugeln"** in Gestalt der Antikörper selbst produziert, die von der Hand des Arztes, ohne die Körperorgane zu treffen, nach den krankheitserregenden Schädlingen abgesandt werden können, mußte dort, wo uns die Naturkräfte nicht hilfreich entgegenkommen, jene Werkstatt in das Laboratorium des Chemikers verlegt werden, dem nun hier eine schwierige Aufgabe zufiel, welche dort vom Organismus scheinbar mühelos geleistet wurde.

Hier bewährte sich nun das Ehrlichsche Leitmotiv: **„chemisch zielen lernen"**. Wie z. B. das Diphtherie-Antitoxin nur das Diphtheriegift aufsucht, die Organe des Körpers aber unbeeinflußt läßt, so galt es nun, mit chemischen Mitteln nach den Krankheitserregern zu „zielen", d. h. Substanzen ausfindig zu machen, die möglichst nur parasitotrop wirken und gleichzeitig eine möglichst geringe schädigende Wirkung auf die Organzellen ausüben — eine möglichst geringe Organotropie haben.

„Weit wichtiger für die synthetische Richtung der Pharmakologie dürfte die Kenntnis der Gruppierungen sein, welche für die selektive Verteilung in verschiedenen Organen maßgebend sind. Bei den Naturstoffen und Toxinen nehme ich an, daß es eine einzelne bestimmte Gruppe, die haptophore Gruppe, ist, die die Verankerung bedingt. Den körperfremden Substanzen fehlt eine solche Einzelgruppe, und die Gesetze ihrer Verteilung im Organismus sind abhängig von der kombinierten Wirkung der einzelnen Komponenten. . . . . Will man Organtherapie in diesem Sinne treiben, so wird man zuerst solche Körperklassen aufzusuchen haben, die zu einem bestimmten Organ eine besondere Verwandtschaft haben" (Ehrlich, 1898, Leyden-Festschr., Bd. I, 1902).

Daß im Reagenzglas mit größter Leichtigkeit eine „Parasitotropie" erzielt und mit chemischen Mitteln (Desinfizientien) Krankheitserreger abgetötet werden können, war seit langem bekannt. Die ganze Schwierigkeit des Problems enthüllte sich aber bei der inneren Desinfektion, bei dem Versuch, auch im Tierkörper durch Desinfizientien eine Wirkung zu erzielen. Hier zeigte sich, daß schon viel geringere Dosen, als zur Abtötung der Mikroorganismen nötig sind, das Tier töten — mit anderen Worten: daß die Giftigkeit dieser chemischen Mittel für den Tierkörper bedeutend größer ist als für den Parasiten.

Zur Lösung des schwierigen Problems kam nun aber Ehrlich der geniale Gedanke zu Hilfe, welcher sich wie „ein roter Faden" von Anfang an durch seine gesamten Arbeiten hinzieht: **„Corpora non agunt nisi fixata."** Es mußten chemische Substanzen zu finden sein, die chemische Aviditäten zu den Parasitenrezeptoren haben und sich mit ihnen binden, denen aber eine Avidität zu den Organrezeptoren fehlt. Daß derartige Bindungen von chemischen Stoffen an tierische Zellen möglich sind, zeigten die früheren Untersuchungen Ehrlichs über die Verteilung gewisser Vitalfarbstoffe im Organismus. So fand er, daß alle stark sauren Farbstoffe die Gehirnsubstanz nicht färben, im Gegensatz zu gewissen basischen Farbstoffen, von denen ein Teil zu den Fetten, die ja dem Lecithin und Myelin nahestehen, Affinität hat. Die Ursache der tinktoriellen Eigenschaft basischer Farbstoffe für das Gehirn liegt darin, daß „das alkalische Blut die Farbbasen gleichsam in Freiheit setzt, so daß sie nunmehr von den Fettsubstanzen leicht aufgenommen werden können. Die Farbsäure wird dagegen von den Alkalien des Blutes fest gebunden und ist daher nicht mehr disponibel" (Ehrlich, Biolog. Therapie 1907, vgl. auch: „Zur therapeutischen Bedeutung der substituierenden Schwefelsäuregruppe", Therapeut. Monatshefte 1887).

„Besonders interessant ist in dieser Beziehung das Methylenblau, das eine besondere Verwandtschaft zu den lebenden Nervenfasern besitzt, so daß man an einem frisch ausgeschnittenen Stückchen Gewebe die Verteilung des Farbstoffes bis in ihre feinste Verästelungen verfolgen kann." Dasselbe Bild läßt sich auch am lebenden Tiere (Würmer, Froschembryonen) demonstrieren, bei denen die Anlagen des Nervensystems als feine blaue Ringe mit regelmäßigen Ausläufern festzustellen sind. Ehrlich sieht die Methylenblaureaktion als eine allgemeine Eigenschaft der Achsenzylindersubstanz an und hält den S-Gehalt des Methylenblaus für ein die Färbung wesentlich bestimmendes Moment. Die ungleichmäßige Färbung einzelner Nerven beruht auf dem wechselnden Grad der Sauerstoffsättigung, sowie auf ihrer chemischen Reaktion. Nur die alkalisch reagierenden und mit O gesättigten Nerven können die Färbung annehmen. Im Hinblick auf die Versuche mit Alizarinblau, das nur sauer reagierende Fasern färbt, glaubt Ehrlich, daß im Nervensystem

„je nach dem Orte und der Funktion eine vieltönige Abstufung der Alkaleszenzgrade stattfindet, die im Verein mit den Veränderungen der O-Sättigung darüber entscheidet, ob und welche Körper in bestimmten Territorien des Nervensystems aufgenommen werden können" (Deutsche med. Wochenschr., 1886).

Im Gegensatz hierzu hat das Neutralrot nur Avidität zu den Zellgranula. „So habe ich neurotrope, lipotrope und polytrope Farbstoffe unterschieden, je nachdem sie sich im lebenden Organismus . . . speichern" (Ehrlich, Dtsch. Ch. Gesellsch. 1908).

Wie nun also das Methylenblau ganz bestimmte neurotrope Eigenschaften hat, das Neutralrot eine Avidität zu den Zellgranula aufweist, so mußten im Protoplasma der Parasiten ebenfalls Gruppierungen — Chemozeptoren — vorhanden sein, die sich an gewisse Gruppierungen chemischer Substanzen binden. So erscheint denn die alte Auffassung des Paracelsus, daß die Arzneimittel wie „Spicula" an den Organen haften, durch die Anschauungen Ehrlichs in neuem Lichte.

Wie Ehrlich nun den von ihm vorgezeichneten Weg der Chemotherapie geschritten ist, wie es ihm durch das genaue Studium der Arzneifestigkeit der Parasiten gelungen ist, ein „therapeutisches Sieb" zu schaffen, mit Hilfe dessen er bestimmte chemische Gruppierungen ausschalten oder heranziehen konnte, wird an anderer Stelle gezeigt werden. Wir wenden uns seinen Forschungen über diejenigen Substanzen zu, die bisher die größte, praktische Bedeutung erlangt haben, die

## Arsenverbindungen.

Die Tätigkeit Ehrlichs ging hier vom Atoxyl aus. Die ersten (unpublizierten) Versuche, die Ehrlich mit diesem Präparat anstellte, gehen bis auf das Jahr 1902 zurück, als er Shiga beauftragte, das Atoxyl sowohl im Misch- als auch Heilversuch bei Trypanosomiasis zu studieren. Da die Resultate wegen der, wie sich später zeigte, relativ großen Atoxylfestigkeit des verwendeten Stammes nicht befriedigend waren, nahm er die Versuche erst 1905 wieder auf, als Thomas bei einem anderen Stamm bessere Wirkung des Atoxyls beschrieben hatte, und begann nun das methodische Studium der organischen As-Verbindungen in ihrer Wirkung auf Trypanosomen.

Inzwischen hatten außer Thomas auch Ayres Kopke, Broden und Rodhain, R. Koch das Atoxyl bei verschiedenen Trypanosomenkrankheiten, auch der Schlafkrankheit, praktisch erprobt, und 1907 veröffentlichten, unabhängig von Ehrlich, Uhlenhuth und seine Mitarbeiter ihre eingehenden Versuche über die Wirkung des Atoxyls bei Trypanosomen und Hühnerspirillen. — Aber für alle diese Forscher war das Atoxyl ein zufällig in den Versuch genommenes Arsenpräparat,

und keiner wird sich wohl klar gemacht, vielleicht nicht einmal die Frage aufgeworfen haben, weshalb das arsenhaltige Atoxyl so anders sich verhielt, wie die arsenige Säure. **Und keiner suchte demnach nach Arsenpräparaten anderer Strukrur,** als sich herausstellte, daß das Atoxyl hochtoxische Eigenschaften, besonders auf den Optikus, hat, so daß es nicht lange dauerte, bis diese therapeutischen Bestrebungen an einen toten Punkt gelangt waren. Denn einerseits war eine weitere praktische Anwendung des Präparats wegen der Erblindungsgefahr ausgeschlossen, andererseits bestand für eine Herabminderung der Toxizität keine Aussicht, da das Atoxyl als Metaarsensäureanilid galt und daher als chemisch schwer veränderbar angesehen werden mußte. — **Keiner auch dachte daran, dass eben von der chemischen Struktur des arsenhaltigen Komplexes die therapeutische Wirksamkeit wie die Giftigkeit für den Organismus abhinge. Diesen Grundgedanken erfasst und in die Tat umgesetzt zu haben, ist das alleinige Verdienst Ehrlichs.**

Der erste Schritt auf diesem Wege war, daß Ehrlich und Bertheim zeigten, daß die bisherige Auffassung von der chemischen Konstitution des Atoxyls eine falsche war, das es sich vielmehr um ein Aminoderivat der Phenylarsinsäure handelte, das chemisch leicht variierbar war, und das je nach Belieben toxischer oder ungiftiger gemacht werden konnte. An zahlreichen, an trypanosomeninfizierten Mäusen geprüften Präparaten konnte gezeigt werden, daß z. B. die Einführung der Schwefelsäuregruppe hochtoxische Substanzen lieferte, daß aber durch Einführung des Essigsäurerestes Verbindungen hergestellt werden können, die viel energischer Trypanosomen abtöteten, dabei aber viel weniger giftig waren als die Ausgangssubstanz, das Atoxyl. Auf diese Weise gelangte Ehrlich zunächst zum acetyl-para-amido-phenyl-arsinsauren Na, dem **Arsacetin.**

Mit diesem Präparat habe ich dann selbst ausgedehnte Tierversuche angestellt, die ergaben:

1. Das Präparat ist zum mindesten für Affen ungleich ungiftiger als das Atoxyl. Gesunde und kranke Tiere vertrugen sehr viel größere Dosen des Arsacetins als des Atoxyls.
2. Das Präparat ist in Lösung unzersetzlich, alte und gekochte Lösungen wirken nicht giftiger.
3. Die Heilwirkung gegenüber der Syphilis war mindestens die gleiche, vielleicht noch eine größere.

Da aber auch eine, wenn auch weit seltenere Wirkung des Arsacetins auf den Optikus festgestellt werden konnte, so war auch dieses Präparat für die menschliche Praxis nicht geeignet.

Nun ergab sich bei der Prüfung des Atoxyls und Arsacetins die auffallende Tatsache, daß im Tierkörper schon ganz geringe Mengen der betreffenden Substanz sich wirksam gegen Trypanosomen erweisen, während die Parasiten in vitro selbst in 1—2 % Lösungen nicht beeinflußt wurden. Da also somit eine direkte Wirkung der Substanzen im Organismus nicht angenommen werden konnte, eine indirekte aber etwa auf dem Umwege über eine „Stimulierung" der Körperschutzkräfte oder einen Zerfall in Anilin und Arsen nicht nachzuweisen war, folgerte Ehrlich, daß der Organismus durch seine reduzierenden Eigenschaften aus der Phenylarsinsäure mit dem 5-wertigen Arsenrest die phenylarsinige Säure mit den 3-wertigen Arsenrest fome. Diese Vermutung lag nahe, da sich z. B. auch nach der Einführung der Kakodylsäure mit 5-wertigem As im Körper das penetrant riechende und sehr toxische Kakodyloxyd mit einem 3-wertigen Arsenrest bildet.

Zum Beweise der Richtigkeit dieser Anschauung stellte nun Ehrlich aus dem Atoxyl das Reduktionsprodukt Paraaminophenylarsenoxyd her und zeigte, daß dieses Präparat auch in vitro noch in einer Verdünnung von 1 : 1 Million Trypanosomen abtötet, während, wie gesagt, das Atoxyl dies noch nicht einmal in 1 %iger Lösung vermag. — Aus diesen Verhältnissen mußte sich gemäß den Ehrlichschen Vorstellungen ergeben, daß diejenigen Protoplasmagruppen des Parasiten, welche chemische Affinitäten zum As besitzen, die sogenannten Arsenozeptoren, nicht das 5-wertige, sondern nur das dreiwertige, noch ungesättigte Affinitäten besitzende As verankern können. Mit Hilfe des „therapeutischen Siebes" der Arsenfestigkeit ging nun Ehrlich daran, Verbindungen mit 3-wertigem Arsenrest zu studieren und stellte eine Substanz her, die noch imstande war, auch einen atoxylfesten Stamm zu beeinflussen, das mit einem Essigsäurerest ausgestattete Arsenophenylglycin (das sogenannte „418").

Diese Substanz leistete, wie Ehrlich und Roehl fanden, bei dourinekranken Tieren so Ausgezeichnetes, daß es selbst bei fast sterbenden Tieren gelang, mit einer Injektion Heilung herbeizuführen.

Die ausgedehntesten Versuche bei Syphilis sind von mir bei Affen ausgeführt worden. Dabei zeigte sich zunächst, daß die Giftwirkung des Präparats sehr zunimmt, wenn es nicht vor Oxydationsvorgängen geschützt wird, da durch den Zutritt von Luft äußerst giftige Umsetzungsprodukte entstehen. Es muß dashalb das Arsenophenylglycin in geschmolzenen Glasröhrchen unter Vakuum aufbewahrt und erst kurz vor der Injektion in Wasser gelöst werden. Ferner erwiesen sich einzelne größere Mengen ungiftiger als eine „Etappenbehandlung" mit vielen kleinen Dosen.

Von 26 präventiv behandelten Affen (d. h. die Behandlung wurde

cum infectione oder 8 Tage nachher begonnen) konnten 25 vor der syphilitischen Infektion geschützt werden.

Von 35 bereits syphilitischen Tieren wurden 29 geheilt, und zwar liegt die wirksame Minimaldose beim Macacus cynomolgus bei 0,1 pro Kilo. — Ein, zwei bis drei derartige Dosen erwiesen sich als nützlicher, als eine in kleinen Dosen verzettelte Etappenbehandlung.

Therapeutische Versuche beim Menschen sind insbesondere von mir (Syphilis) und von Alt (Paralyse) gemacht worden.

Nach meinen Erfahrungen werden zwar alle Symptome der Syphilis gut und prompt beeinflußt, am deutlichsten jedoch zeigt sich der Einfluß bei allen pustulösen und ulzerösen Formen der Frühperiode, der malignen Syphilis wie der tertiären Periode und bei schweren Leukoplakien. Nebenher geht eine, namentlich bei malignen Fällen ganz auffallende Besserung des Allgemeinbefindens. Eine volle wirkliche Sterilisierung wurde aber namentlich in sekundären Fällen nur sehr selten erreicht. Bei einem Teil der Kranken wurden Rezidive beobachtet, und die positive Serumreaktion wurde nur selten beeinflußt. Dagegen scheint eine Abortivbehandlung mit Arsenophenylglycin bei Fällen, die unmittelbar nach dem Auftreten des Primäraffektes injiziert werden, zu gelingen. Solche Patienten blieben dauernd frei von Erscheinungen und zeigten dauernd negative Blutreaktion.

Ich glaube daher, daß das Arsenophenylglycin ein für eine gewisse Gruppe von Kranken sehr gut verwendbares Heilmittel ist:

1. bei allen Fällen, die man in den allerfrühesten Stadien in Behandlung nehmen kann,
2. bei allen ulzerösen Prozessen der Sekundär- und Tertiärperiode,
3. bei Menschen mit Idiosynkrasie gegen Hg und Jod,
4. bei Tabikern mit noch floriden Prozessen,
5. bei schweren Leukoplakiefällen.

In langwierigen Versuchen über Arzneifestigkeit stellte nun Ehrlich weiter fest, daß die Parasiten z. B. das Arsenophenylglycin nicht nur mit ihrem Arsenozeptor, sondern mit einer weiteren, zum Essigsäurerest Affinität zeigenden Gruppierung verankern, mit einem Azetikozeptor. Es ergab sich daraus die für die weitere Forschungsrichtung äußerst wichtige Anschauung, daß der Arzneistoff nicht nur von einer einzelnen Gruppierung, sondern gleichzeitig von verschiedenen verankert werden kann. „Der Arzneistoff wird gewissermaßen in seinen verschiedenen Gruppierungen von besonderen Fängern des Protoplasmas gefesselt, gleichwie ein Schmetterling, dessen einzelne Teile mit verschiedenen Nadeln fixiert werden. Genau wie der Schmetterling erst am Rumpf und dann sukzessive an den Flügeln aufgespannt wird, gilt dies auch von den komplizierter gebauten Arzneisubstanzen.“ **Es mußte also eine spezifische Therapie dadurch erstrebt werden, daß „wir für jeden Parasiten bestimmte**

**verankernde und ihm gewissermaßen eigenartige Nebengruppierungen ausfindig machen, die bestimmte Reste packen und so eine spezifische Verankerung ermöglichen**". Während eine solche Nebengruppierung für die Trypanosomen der Azetikozeptor darstellte, zeigte sich nun, daß bei den Spirochätenerkrankungen insbesondere die Hydroxylgruppen in Betracht kommen, die sich in der Parastellung zum 3-wertigen As befinden (Arsenophenol).

Genau so wie bei der Einführung des Essigsäurerestes in das Atoxyl, so zeigte sich jetzt, daß durch die Einführung der Amidogruppe in das Arsenophenol sowohl die Giftigkeit herabgesetzt, also die Organotropie vermindert, als auch die Parasitotropie, die Wirksamkeit gegen die Spirochäten erhöht werden kann, und es entstand auf diese Weise auf dem Wege vom „418" zum „606" das Dioxydiamidoarsenobenzol, das Salvarsan. Hier fungiert also die Amido-Oxy-Gruppierung als Anker, als „Spikulum", mit dem sich das Arzneimittel an den Parasiten ansetzt („haptophore" Gruppe); die Arsengruppe löst die Giftwirkung auf die Erreger aus („toxophore" Gruppe), und der Benzolrest wirkt gewissermaßen als Träger und Bindeglied, das die deletäre Wirkung auf die Haftgruppe vermittelt. Ehrlich vergleicht dies treffend mit einem Giftpfeil, bei dem die Spitze die Haftgruppe, der Schaft das Bindeglied und das am Schaft angebrachte Pfeilgift die Giftgruppe darstellen würde. — So hatte denn Ehrlich das

**Salvarsan**

in Händen und übergab es 1910 der medizinischen Welt. —

Es ist wohl beispiellos, daß ein Heilmittel in so kurzer Frist — es sind 4 Jahre seit der ersten Bekanntgebung des 606 (1910) vergangen — sich die Welt erobert hat, wie das mit dem Salvarsan der Fall ist.

Aber auch selten waren die experimentellen Vorarbeiten an Tierversuchen so ausgiebig und so sorgfältig ausgestaltet, und noch nie war eine so zielbewußte Organisation, um in kurzer Frist eine ärztliche Erprobung an syphiliskranken Menschen zu ermöglichen, in die Wege geleitet. Nachdem durch vorsichtigste, genügend zahlreiche Vorversuche die Grundlagen für die Dosierung zum Gebrauch bei Menschen und eine brauchbare Methode geschaffen waren (Alt), wurden Hunderte von Kliniken, Krankenhäusern und Ärzten der ganzen Welt in den Stand gesetzt, selbst die Heilkraft des 606 zu erproben, so daß sehr bald durch Tausende von Einzelbeobachtungen ein Urteil, ob das Mittel nicht nur am Tier, sondern auch am Menschen

sich wirksam erwiese — leider ist ja die menschliche Syphilis eine viel hartnäckigere, viel schwieriger zu heilende Erkrankung, als die Tiersyphilis — ermöglicht wurde. Freilich schossen manche der ersten Untersucher, wie das selbstverständlich war, verblüfft durch die bisher nie bei Syphilis erreichten Heilwirkungen, über das Ziel hinaus und gaben so durch ihren überschwenglichen Enthusiasmus und die Art ihrer Publikation den Überskeptikern Waffen gegen die neue Entdeckung in die Hand. Aber weder das Zuviel des Lobes, noch das Zuwenig der Anerkennung, noch sonstige störende und ärgerliche Verstöße konnten schließlich der tatsächlichen Bedeutung des Salvarsans für die Syphilistherapie und seiner allgemeinen Anerkennung Abbruch tun. Und so darf man heute sagen: Wer sich nicht absichtlich den zu Tausenden vorliegenden Beobachtungstatsachen und Erfolgen verschließt, muß anerkennen, daß Paul Ehrlich mit dem Salvarsan einen ungeheuren, heute noch gar nicht in seiner Tragweite zu übersehenden Fortschritt angebahnt hat; einen Fortschritt, so groß, daß man theoretisch sogar an die Möglichkeit denken könnte, das Salvarsan müsse im Verein mit der Ausnützung der Spirochätenentdeckung und der Wassermann-Reaktion die Syphilis als Volkskrankheit so gut wie ausrotten. Leider werden freilich die Menschen in ihrem Leichtsinn und Indifferentismus und in ihrer Unkenntnis der Bedeutung der Syphilis dafür sorgen, daß diese Möglichkeit nicht zur Tatsache wird. Aber dessen bin ich sicher: ein gewaltiger Umschwung in der Bedeutung der Syphilis für die Morbidität und Mortalität wird eintreten, wenn wir Ärzte die uns in die Hände gegebene Waffe wirklich ausnutzen, und wenn es uns gelingt, das Publikum aufzuklären.

Wirkliche „Anti-Salvarsanisten" gibt es wohl heute unter den objektiv denkenden Ärzten kaum noch. Aber man kann zwei Gruppen unterscheiden: einmal diejenigen, die das Salvarsan eigentlich fürchten und es nur in bestimmten Ausnahmefällen verwenden; sie sind überängstlich, behandeln mit zu kleinen und zu seltenen Dosen, oft nur mit einer einzigen, und haben eben durch diese Unterdosierung schlechte Resultate, sie wollen das Gros der Kranken nur mit der alten Syphilisbehandlung traktieren; und ferner solche, die umgekehrt nur bei ganz bestimmten Kontraindikationen, also in Ausnahmefällen von Verwendung des Salvarsans Abstand nehmen und, die Erfahrungen der vier Salvarsan-Jahre ausnutzend, die 606-Therapie so energisch, wie im einzelnen Falle möglich, zu gestalten suchen.

Ich selbst bekenne mich aus vollster Überzeugung zu letzterer Gruppe; ich erblicke in der Einführung des Salvarsans in die Syphilistherapie einen ungeheuren Fortschritt für die Menschheit und halte es geradezu für ein Unrecht, einem Syphiliskranken das Salvarsan vorzuenthalten. —

**Worin besteht nun der eminente Fortschritt mit Bezug auf die Syphilisbehandlung und Syphilisbekämpfung?**

In erster Reihe ist ein mehr äußerliches Moment hervorzuheben: Die Salvarsanbewegung hat die ganze Menschheit mit einem Schlage auf die große Wichtigkeit der Syphilis und auf die Notwendigkeit einer energischen Syphilisbehandlung hingewiesen. Tausende und Abertausende sind erst durch die Aufsehen erregenden (vielleicht nicht immer erwünschten, aber unvermeidlichen) Pressemitteilungen über die ärztlichen Diskussionen über Erfolge oder Mißerfolge der neuen Therapie auf die Verbreitung und auf die Bedeutung der Syphilis als Ursache so vieler Hirn-, Rückenmark-, Herz- usw. Erkrankungen hingewiesen worden und haben erst jetzt Kenntnis genommen von den vielen schweren Nach- und Späterkrankungen. Und so erinnerten sie sich alter „Sünden", und es war die Angst, die sie, wie andere frisch Infizierte, zum Arzte geführt hat. Tausend andere, die die Syphilis für unheilbar hielten, vielleicht schon viele nicht vollwirkende Kuren aller Art hinter sich hatten, haben nun zum erstenmal von autoritativen Stellen gehört und gelernt, wie falsch ihre Auffassung über die Syphilis war, haben neuen Mut gefaßt und haben sich auf diese Weise erneut der Behandlung unterzogen. Es ist gar kein Zweifel, daß seit der Salvarsanära die Zahl derjenigen Syphiliskranken, der frisch infizierten wie der älteren Fälle, die sich überhaupt in ärztliche Behandlung begeben und sich einer sachgemäßen, ausreichenden Syphilisbehandlung unterwerfen, zugenommen hat.

Schon die Tatsache, daß alle diese Syphilisfragen täglich und dauernd der öffentlichen Diskussion unterzogen wurden, haben die Aufgaben der Syphilisbekämpfung ungemein gefördert. Das große Publikum, auch die „gute Gesellschaft" hat gelernt, sich mit der Tatsache, daß die Syphilis nun einmal eine Volksseuche sei, daß sie in ungezählter Massenhaftigkeit verbreitet sei, abzufinden, und an Stelle der Verheimlichung, die nur gar zu oft zu einem Nichtbehandeln führte, ist nun das Bestreben getreten, den Tatbestand, Krankheit oder Heilung festzustellen und sich dann, wenn notwendig, behandeln zu lassen. Das Wort 606 verträgt sich jetzt sehr wohl mit dem „guten Ton".

Nun hatten wir aber doch — in Tausenden von Arbeiten ist das betont, und Jahr für Jahr habe ich selbst für die Notwendigkeit einer energischen Quecksilberbehandlung plädiert und die Ärzte zur besseren Ausnutzung dieses wunderbaren Syphilisheilmittels anzustacheln versucht — im Quecksilber seit ein paar hundert Jahren ein Heilmittel gegen die Syphilis, an dessen Heilkraft angesichts der geradezu wunderbaren Erfolge an Tausenden von Kranken kein Verständiger zweifeln konnte.

Wie kam es, daß das Quecksilber trotzdem nicht solche Erfolge für die Syphilisbehandlung im allgemeinen aufwies?

1. An das Quecksilber war die große Volksmasse gewöhnt; es fehlte das Eklatante der momentan verblüffenden Heilresultate, die Kuren waren unbequem und langwierig, oft störend, und so haben sich Hunderte und Tausende der Quecksilberbehandlung entzogen oder sie nur lässig durchgeführt, weil sie von einer vollen Heilwirkung der Kur, die ja auch tatsächlich bei einer einmaligen Durchführung nicht zu erreichen war, nicht überzeugt waren.

2. Aber es gab nicht nur lässige Freunde, sondern eine große, dem Hg feindselige Partei der Antimerkurialisten, denen es in enger Brüderlichkeit mit allen der wissenschaftlichen Medizin feindlichen Fanatikern in geradezu unbegreiflicher Weise gelungen war, selbst gebildeten Volkskreisen einzureden, daß die Quecksilberbehandlung nicht bloß unnütz wäre, sondern sogar schädlich insofern, als sie erst die sogenannte „tertiäre" Syphilis zum Vorschein brächte. Ebenso wurde gepredigt, daß das Quecksilber an dem Auftreten der Rückenmarkschwindsucht und der Paralyse schuld sei. Es bedarf hier keiner Darlegung, wie töricht diese durch nichts begründeten und durch nichts bewiesenen Lehren sind. Aber tatsächlich hatte und hat wohl jeder Arzt damit zu tun, das gegen das Quecksilber bestehende Vorurteil zu bekämpfen, und leider noch immer führt es dazu, daß oft genug eine Quecksilberbehandlung überhaupt unterbleibt oder ganz unzureichend durchgeführt wird.

3. Es kommt hinzu das Zusammenfallen der Salvarsanentdeckung und seiner Einführung mit den anderen großartigen Entdeckungen auf dem Gebiete der Syphilisforschung und den durch sie angebahnten Fortschritten in der Syphilistherapie.

1903 kam die Entdeckung von Metschnikoff und Roux, daß Tiere für Syphilis empfänglich seien, und damit die Möglichkeit, durch das Tierexperiment alle möglichen Rätsel der Syphilispathologie zu lösen. Es kam 1905 die Spirochätentdeckung von

Schaudinn und 1907 die Einführung der Seroreaktion durch Wassermann (in Gemeinschaft mit C. Bruck und A. Neisser); alles Momente, die nicht nur die ärztliche Welt in Erregung brachten und der Syphilisforschung einen Aufschwung und eine Vertiefung gegeben haben, welche die ganze Lehre der Syphilis im Laufe der letzten 10 Jahre verändert haben, sondern die auch das Laienpublikum nicht unberührt ließen. In der Tat ist die Umwälzung und der Aufschwung in der Syphilidologie so groß, wie ihn wohl kaum je ein Zweig der Medizin im Laufe der Jahrhunderte erlebt hat; ein Umschwung, der dazu führen wird und führen muß, die unendlichen Schrecken, welche die Syphilis mit sich bringt, nach allen Richtungen hin zu mildern.

Es ist hier aber auch die Tätigkeit der „Deutschen Gesellschaft zur Bekämpfung der Geschlechtskrankheiten" zu erwähnen. Deren ausgedehnte Propaganda hatte das Volk schon seit Jahren auf die Bedeutung der Syphilis als Volkskrankheit, auf die Notwendigkeit ihrer Behandlung und auf die Erfolge, die man mit rationeller Behandlung erzielen könnte, hingewiesen.

Kurz, das Salvarsan traf eine „sensibilisierte" Volksstimmung vor, empfänglich für die neue große Entdeckung Paul Ehrlichs. —

4. Es steht aber fest — und das ist das Wichtigste —, daß das Salvarsan als Heil- und Behandlungsmittel tatsächlich sehr viele Vorzüge vor dem Quecksilber hat. Ich stehe nicht an, zu erklären, daß ich, wenn ich wählen müßte, nur mit Quecksilber oder nur mit Salvarsan zu behandeln, das Salvarsan wählen würde. Glücklicherweise sind wir ja aber in der Lage, nicht wählen zu müssen, sondern wir haben jetzt in dem Kampfe gegen die Syphilis zwei wunderbar wirkende spezifische Mittel in Händen; zwei Mittel, die sich nicht nur in ihrer Wirkung gegen die Syphilis ergänzen, sondern durch deren Kombination eine gesteigerte Heilwirkung zustande kommt und zugleich der behandelte Mensch noch mehr vor der Gefährlichkeit der Syphilisbehandlung geschützt ist, als früher. Wir sind jetzt in der Lage, mit jedem Mittel unterhalb derjenigen Grenze zu bleiben, die ev. schädlich und gefährlich werden könnte. Mit keinem der Mittel brauchen wir über die „Dosis bene tolerata" hinauszugehen und haben doch die volle Dosis bene efficax. Und so glaube ich, daß die Kombinationstherapie von Salvarsan mit Quecksilber für die Zukunft die Methode der Wahl sein wird, wobei zu bemerken ist, daß sich beide Mittel im menschlichen Organismus ausgezeichnet vertragen.

**Welches sind nun die besonders guten Eigenschaften des**

**Salvarsans bei der Syphilisbehandlung? Worin bestehen ihre großen Vorzüge gegenüber dem doch auch so bewährten Quecksilber?**

In erster Reihe übt das Salvarsan eine bedeutend kräftigere und schnellere tötende Einwirkung auf die Spirochäten aus als das Hg; natürlich nur so weit, als die Spirochäten dem Heilmittel im Körper mechanisch zugänglich sind. Die Frage, ob es sich bei der schnellen Abtötung der Spirochäten im Körper, wie ich mit Ehrlich glaube, allein um eine direkte Abtötung der Spirochäten selbst durch das chemische Mittel handelt, oder ob außerdem noch irgendwelche vom Organismus ausgehende Abwehrkräfte, die durch die Zufuhr des Salvarsans zu erhöhter und energischerer Tätigkeit angestachelt werden, mitspielen, lasse ich dahingestellt. Wie dem aber auch sei, die Tatsache, daß eine ungemein schnelle Abtötung der Spirochäten zustande kommt, steht fest, und zwar gerade in denjenigen Stadien, wo rapide und schnelle Spirochätenvernichtung am wichtigsten ist: nämlich in den ersten Stadien der Syphilis, in denen die Spirochätenmassen noch nicht in versteckten Herden abgekapselt, sondern meist noch frei in den Lymphgefäßen und in dem fließenden Blut vorhanden sind und erst anfangen, ihre Metastasen in den verschiedensten Organen zu setzen. Wie schnell diese Abtötung vor sich geht, sehen wir einmal bei der miskroskopischen Untersuchung und ferner an der Schnelligkeit, mit der die sichtbaren Erscheinungen der primären und sekundären Syphilis an Haut, Schleimhaut, Periost usw. zurückgehen. Aber wir dürfen eine gleich schnelle und sichere Spirochätenvernichtung auch überall im Körper annehmen, und so haben wir namentlich im primären Stadium sog. „abortive" Heilungen zu verzeichnen, die nun bereits zu vielen Hunderten publiziert sind und von jedem, der das Salvarsan (mit und auch ohne Hg) auszunutzen weiß, täglich zu beobachten sind. Aber auch die zahlreichen — auch strengster Kritik standhaltenden — Reinfektionsfälle beweisen in exaktester Weise diese parasitizide Eigenschaft und damit wohl am eklatantesten den eminenten Heilerfolg, den man durch Salvarsan erzielen kann. Obgleich ich seit jeher (1881 meine erste diesbezügliche Publikation) zu denjenigen gehört habe, die eine möglichst früh einsetzende und möglichst intensive Hg-Behandlung durchgeführt haben, so habe ich solch glänzende Abortiverfolge kaum je gesehen. Wir verdanken sie einzig und allein der Einführung des Salvarsans in die Therapie.

Auch wenn schon die sekundären Erscheinungen aufgetreten sind, haben wir in ganz ähnlicher Weise, wenn auch nicht so sicher, mit

ganz rapiden und auffallend raschen Heilresultaten zu rechnen. Exantheme verschwinden in kürzester Frist, und namentlich die ganz besonders kontagiösen Plaques muqueuses auf den Schleimhäuten schneller, als wir das je früher erzielen konnten. Aber auch Dauerheilungen werden oft genug noch in diesem Krankheitsstadium erzielt.

Diese schnelle Abtötung der Spirochäten kann freilich auch störende Wirkungen erzeugen: So können Nebenwirkungen entstehen durch die Einwirkung des Salvarsans:

a) auf die Spirochäten,

b) auf die syphilitischen Krankheitsprozesse.

Hierher gehören:

1. die wohlbekannten Erscheinungen des (meist nach der 1. Injektion auftretenden) Spirochäten-Endotoxin-Fiebers,

2. alle die unter dem Namen Jarisch-Herxheimersche Reaktion zusammengefaßten Erscheinungen.

Es genügt der kurze Hinweis, daß diese entzündlich-ödematösen Schwellungen bedenklich werden können, wenn der reagierende Herd sich an lebenswichtigen Organen oder etwa im Kehlkopf befindet. Da sich nun immer mehr herausstellt, daß das Nervensystem frühzeitig von Spirochäten durchseucht wird, und daß daselbst ganz besonders günstige Ansammlungsbedingungen vorliegen, da man also in jedem Falle, auch wo klinische Zeichen fehlen, mit solcher Spirochätenlokalisation rechnen muß — eine klärende Lumbalpunktion wird nicht immer ausführbar sein —, so muß auch in jedem Falle mit der Möglichkeit einer sich im Nervensystem abspielenden Herxheimer-Reaktion gerechnet werden. Je plötzlicher und heftiger sie sich entwickelt, um so gefahrbringender kann sie werden. (Es wird daher vorsichtig sein, mit kleinen Dosen 606 zu beginnen, eventuell eine milder und langsamer wirkende Hg-Applikation der Salvarsankur vorauszuschicken.)

Es soll nun nicht geleugnet werden, daß auch eine schnelle Abheilung durch Quecksilber erzielt werden kann, namentlich durch Injektionen löslicher Präparate, bei denen das Quecksilber ungemein schnell resorbiert wird und schnell seine Wirkung im Körper entfalten kann. Von den allermeisten Hg-Präparaten aber steht fest, daß die großen Quecksilberdosen, die zu solch schneller und rapider Spirochätenabtötung und Beseitigung von Symptomen führen, schlechter vertragen werden und viel häufiger von unliebsamen Nebenerscheinungen begleitet sind, als das bei der Salvarsanwirkung der Fall ist. Gleiche Wirkung des Salvarsans und des Quecksilbers nebeneinander gestellt, so ergibt sich, daß man diese Wirkung

mit dem Salvarsan leichter, bequemer und unschädlicher erreichen kann, als mit Quecksilber.

Das Ideal einer Syphilistherapie wäre natürlich, wenn man mit einer einzigen Injektion eines einzigen Medikaments die gesamte Spirochätenmenge im Körper vernichten könnte. Es soll nun nicht geleugnet werden, daß diese Möglichkeit einer Therapie sterilisans magna, mit einer Salvarsaninjektion einen vollen Heilerfolg zu erzielen, vorhanden ist.

Aber die Erfahrung lehrt, daß ein solcher Erfolg selten, jedenfalls nicht sicher zu erreichen ist, so daß der vorsichtige Arzt sich nie von einer so optimistischen Auffassung wird leiten lassen.

Die Erfahrung hat aber auch gelehrt, daß ein solches Vorgehen sogar gefährlich sein kann. Dem momentanen Heilerfolge folgen Rezidive, welche oft als „Neurorezidive" einen besonders unangenehmen Charakter tragen. Ich verweise hier auf Ehrlichs und Benarios eingehende Bearbeitung der Neurorezidivfrage. Eine solche „Fastheilung" (durch zu kleine Gesamtdosis während einer bestimmten Behandlungsperiode) muß also unter allen Umständen vermieden werden, und man wird sich demgemäß nie mit einer einzigen Salvarsaninjektion begnügen, sondern stets mehrere Injektionen auszuführen haben. Überhaupt kann eine schlechte, d. h. zu schwache Salvarsanbehandlung unter Umständen mehr Schaden als Nutzen anrichten. Dann darf man aber nicht dem Salvarsan als solchem, sondern der ungenügenden Anwendungsweise die Mißerfolge zur Last legen.

Ich hatte oben mit besonderem Nachdruck auf den Nutzen einer kombinierten Salvarsan + Hg-Behandlung hingewiesen, weil sie ungefährlicher sei. Das Quecksilber (in der Kombinationskur) verhütet, wie bereits gesagt, gewisse störende Nebenwirkungen, die bei frischen Syphilisfällen durch eine eventuell zu brüske Einwirkung des Salvarsans auf die Spirochätenmasse zustande kommen können. Die Kombinationskur ist aber sicher auch nützlicher, weil nachhaltiger in der Wirkung, Rezidiv-verhütender. Es scheint, als wenn das Quecksilber besonders geeignet wäre, die durch das Salvarsan nicht ganz beseitigten und nicht getöteten Spirochäten in ihrer späteren Entwicklung und ihrer Vermehrung ungünstig zu beeinflussen, namentlich wenn man das Quecksilber in einer lange-remanenten Form in den Organismus einführt. Das Quecksilber wirkt dann vielleicht nicht direkt spirochätentötend, aber entweder die Spirochäten schwächend, so daß sie dem Salvarsan leichter zugänglich sind, oder auf dem Umwege, daß vom Organismus aus spirochätenabtötende und entwicklungshemmende Abwehrstoffe produziert werden.

Aber wenn ich auch die Möglichkeit, mit Salvarsan allein eine vollkommene Heilung zu erzielen, namentlich für die ersten Krankheitsstadien, durchaus nicht leugnen will, so muß ich doch von demselben Gesichtspunkte aus, von dem ich mich gegen die Anwendung einer einzigen Salvarsaninjektion in praxi wehrte, mich gegen die alleinige Anwendung von Salvarsan wenden, weil die Erfahrung gelehrt hat, daß die Heilresultate mit der kombinierten Therapie bessere und namentlich sicherere sind, als mit Salvarsan oder gar mit Quecksilber allein.

Aber auch mit einer einzigen Kombinationskur soll man sich nicht zufrieden geben. Die Erfahrung hat gelehrt, daß nicht gar so selten die Wassermann-Reaktion positiv bleibt oder, nachdem sie negativ war, wieder positiv wird, und daß Rezidive auftreten; so daß es also vom ärztlichen Standpunkt aus falsch ist, solchem Optimismus, eine Kur würde genügen, zu huldigen. Man muß vielmehr stets mit dem ungünstigen Falle einer nicht erreichten Vollheilung rechnen. Denn zeigt sich der ungünstigere Verlauf, so erkennt man — aber leider erst, wenn es zu spät ist —, welchen Fehler man durch die Unterlassung einer sorgsam fortgesetzten Behandlung gemacht hat: man hat den nicht vernichteten Spirochäten Zeit gelassen, sich wieder reichlich zu entwickeln und zu vermehren. Man hat aber auf diese Weise nicht nur den schönen Erfolg der ersten Behandlung verloren, sondern es ist jetzt sogar schwerer, wieder einen vollen Erfolg zu erzielen; denn die klinischen Erfahrungen lehren, daß anscheinend bei der Syphilis ganz ähnliche Verhältnisse vorliegen, wie bei den Trypanosomenerkrankungen, bei denen auch durch zahlreiche Experimente mit aller Sicherheit festgestellt ist, daß die Rezidive viel schwerer und viel unsicherer zu heilen sind, als der erste Krankheitsschub.

Es kommt ferner immer wieder auch das besondere, nicht oft genug zu betonende Moment in Betracht, daß möglicherweise schon in diesem frühen Stadium der Krankheit die Spirochäteneinwanderung in die nervösen Zentralorgane sich vollzieht, und zwar nicht nur in die Meningen und Lymphräume, sondern vielleicht auch schon in das Parenchym der eigentlichen Nervensubstanz, daß also schon in diesen frühen Zeiten die Grundlage für die Tabes und Paralyse gelegt wird.

Das Wichtigste aber ist: **die von Anfang an eingeleitete Kombinationstherapie führt viel sicherer zu einer vollkommenen Abortiv-Heilung, als die Salvarsankur allein und gar als eine**

alleinige **Quecksilberkur;** eine Anschauung, die dauernd mehr an Boden gewinnt.

**Und dies ist für die ganze Zukunft der springende Punkt der Syphilisbehandlung und damit der Syphilisbekämpfung:**

Die Syphilis **muß** — und **kann**! — in den allerersten Wochen und Monaten geheilt, alles Virus vollständig aus dem Körper beseitigt werden; denn sonst bleiben nur gar zu oft Spirochätennester übrig, die teils ihrer mechanischen Unzugänglichkeit halber, teils vielleicht wegen eines veränderten Verhaltens gegenüber der Wirkung der Medikamente nie mehr beseitigt und vernichtet werden können. Wie oft stoßen wir — und in je späteren Zeiten der Syphiliserkrankung, um so öfter — auf Fälle, in denen alle Kuren mit Salvarsan, Quecksilber und Jod und mit allen Hilfsmitteln der physikalischen Therapie keinen wirklichen Heilerfolg mehr erzielen: die Reaktion bleibt positiv, und damit bleibt für den Kranken immer die Möglichkeit irgendeines Rezidivs bestehen. — Und gar die Paralyse und die Tabes und die schweren Aortenerkrankungen! Entgeht auch das Gros der (namentlich der gutbehandelten) Syphilitiker dem traurigen Schicksal dieser Nachkrankheiten — wir werden etwa mit 10—15 % der schlecht Behandelten rechnen müssen —, so ist doch das Unglück, das durch diese Krankheiten in die Welt gesetzt ist, unübersehbar. Trifft es doch zumeist die Menschen in dem Alter, in dem sie bereits eine Familie gegründet haben und mitten im Beruf stehen, so daß nicht nur sie selbst, sondern unzählige Angehörige durch die Syphilis des Gatten und Vaters in empfindlichster Weise geschädigt werden.

Wenn wir auch glauben, daß bei rechtzeitig erkannten Tabes- und Aortenfällen die Therapie nicht ganz machtlos ist, so ist doch von wirklichen Heilresultaten bei der Paralyse kaum zu sprechen. Da haben wir eben die Folgen der vielleicht vor Jahren und Jahrzehnten vollzogenen Spirochätenlokalisation, an die wir mit den uns zur Verfügung stehenden chemischen Körpern nicht heran können. Hoffen wir, daß es Paul Ehrlich gelingen möge, uns auch hier ein weiteres, die Spirochäten auch in der Nervensubstanz erreichendes Heilmittel in die Hände zu geben.

Stellen wir diesen durch die tertiären und namentlich diese „parasyphilitischen" Späterkrankungen geschaffenen Schrecknissen gegenüber die durch Paul Ehrlich geschaffene Möglichkeit, durch Abortivheilung diese Spätformen zu verhüten, dann wird erst klar, was das Salvarsan für die Bekämpfung der Syphilisgefahr, für den Einzelnen, wie für die Gesamtheit der Völker, bedeutet, und es kann nicht genug

betont werden: **Vor der Salvarsanentdeckung haben wir diese Erfolge nicht erreicht und konnten sie nicht erreichen.**

Soll aber Ehrlichs Entdeckung den Segen, den sie schaffen kann, auch wirklich stiften, dann müssen nicht bloß das große Publikum, sondern auch die Ärzte immer wieder und wieder auf diese Möglichkeit, helfen zu können und sich helfen zu lassen, hingewiesen werden. Besonders wirksam wird es sein, wenn nicht allein wir Syphilidologen, sondern namentlich die inneren Kliniker, die Neurologen und Psychiater den Studierenden an den schweren Nachkrankheiten vor Augen führen, was bei diesen Kranken durch die Unterlassung der frühzeitigen und schließlich so einfachen und bequemen Behandlung gesündigt worden ist!

Auch wenn man keine volle Heilung erzielt, wird sicherlich auch bei denjenigen, die eine oder mehrere gute Kombinationskuren durchgemacht haben, eine größere Sicherheit gegen häufige und schwere Rezidive, auch gegen schwere Spätformen erzielt, als vor der Salvarsanära. Denn je geringer die Zahl der restierenden Spirochätennester ist, desto geringer muß wohl die Gefahr für den Träger dieser Spirochätennester sein.

Daß eine so umstürzlerische Entdeckung sich nicht glatt und ohne Widerspruch einbürgern würde, war von vornherein anzunehmen. Und in der Tat blieb der Widerspruch auch nicht aus. Über die häßlichen Unterstellungen und persönlichen Angriffe, — so schmerzlich und kränkend sie auch von Ehrlich selbst und denjenigen, die den Menschen Ehrlich kannten und liebten, empfunden wurden —, gehe ich hinweg, obgleich sie selbst von deutscher Seite noch nicht ganz verstummt sind.

Aber kurz muß ich der anscheinend berechtigten Angriffe Erwähnung tun, die sich auf die Beobachtung störender und schädlicher Vorkommnisse, ja von Todesfällen bei und nach der Salvarsanbehandlung stützten. Durfte man wirklich zur Salvarsanbehandlung raten, wenn das Mittel so gefährlich war?

Daß das Salvarsan nicht vollkommen ungefährlich sein könne, war bei einem so starken Arsenpräparat als selbstverständlich vorauszusetzen, und es ist nicht recht zu verstehen, warum manche auch jetzt noch meinen, mit der Betonung dieser Tatsache sich ein besonderes Verdienst zu erwerben. Ebenso selbstverständlich ist es, daß das Arsen zu Nebenwirkungen führen kann. Es konnte sich also nur darum handeln, festzustellen: Sind denn die unerwünschten

Nebenwirkungen unvermeidlich? Oder treten sie so häufig und stark auf, daß für die Therapie des kranken Menschen die Heilkraft im Verhältnis zur Gefahr zurücktritt? Und gelingt es festzustellen, aus welchen Gründen einige wenige Individuen in schwerer Weise reagieren, während Tausende ohne jede Störung ihre Injektionen vertragen? weshalb aus dem ungefährlichen Salvarsankomplex hin und wieder — nicht immer, das ist der springende Punkt — gefahrbringende Arsenverbindungen entstehen?

Erst mußte natürlich eine Lehrzeit durchgemacht werden, und in der Tat könnte man, wenn man die Berichte aus den ersten Zeiten der Salvarsanära liest, stutzig werden. Was hatte man nicht alles im Verlaufe einer Salvarsanbehandlung zu befürchten! Man las von „Fieber bis zu 40°C, Übelbefinden, Prostration, Kopfschmerz, Schwindel, Flimmern vor den Augen, Übelkeit, Erbrechen, Koliken, Durchfällen, Ikterus, Appetitlosigkeit, Pulsbeschleunigung oder Verlangsamung, Herzbeklemmungen, Atemnot, psychischer und motorische Unruhe, Angstgefühl, Zittern in den Beinen, Krämpfen, vorübergehenden Lähmungen, Blasenstörungen, Albuminurie, Zylindrurie, Schweißausbrüchen, Trockenheit und Kratzen im Halse und Schlund, salziger Geschmack im Munde, toxischen Erythemen, Herpes zoster, Melanosen".

Aber das Bild hat sich in kurzer Zeit vollkommen verschoben, und wir dürften von objektiven Verfassern der Salvarsanbücher wohl verlangen, diese Tatsache zu betonen und in den Vordergrund zu stellen, statt die alten, in ihrer Mehrzahl überwundenen Mißgriffe immer wieder vorzubringen. Dank der unausgesetzten Arbeiten der Salvarsanbehandler — ich nenne insbesondere Wechselmann — sind alle die mehr oder weniger großen Fehler der erstangewandten Technik, Methodik und Dosierung überwunden worden, und ich glaube, daß heute wohl nur eine verschwindende Zahl von objektiven Forschern wird leugnen können, daß das richtig angewendete Salvarsan ein fast ungefährliches Mittel sei; so ungefährlich, daß man es eben bei fast jedem Syphilisfalle — der Kontraindikationen gibt es ungemein wenige — nicht nur anwenden darf, sondern nach meiner Überzeugung anzuwenden versuchen muß, vorausgesetzt, daß man mit dieser scharfen Waffe umzugehen weiß. Das ist aber sicher nicht überall der Fall gewesen, bewiesen durch die nun einmal nicht aus der Welt zu schaffende Tatsache, daß sehr häufig die störenden und schädlichen Beobachtungen an ein und derselben Stelle zu gleicher Zeit vorkamen, und daß man

demgemäß an örtlich vorliegende Gründe gewisser Salvarsanmißerfolge glauben muß.

An meiner Überzeugung von der verhältnismäßig großen Ungefährlichkeit des Salvarsans als solchem ändert auch nichts die Tatsache, daß es Individuen gibt, die das Salvarsan nicht vertragen, und daß sogar tödlich verlaufende Salvarsanintoxikationen vorkommen, die wir bisher leider nicht vermeiden können. Von den vermeidbaren und durch irgendwelche jetzt bekannte Fehler verschuldeten Todesfällen spreche ich natürlich nicht — auch der erbittertste Salvarsangegner müßte meines Erachtens, wenn er objektiv die Gefahrchance der Salvarsanbehandlung abschätzen will, alle diese Fälle außer Betracht lassen und nicht kritiklos alles als propter Salvarsan aufzählen, was sich sehr oft als post injectionem erweisen läßt —, sondern ich spreche nur von den Intoxikationen, die höchstwahrscheinlich auf einer spezifischen Idiosynkrasie vereinzelter Individuen beruhen.

Aber was bedeuten diese Fälle in ihrer minimalen Zahl gegenüber den Zehntausenden, die in Millionen von Injektionen ohne jede Schädigung, ja meist ohne jede Störung behandelt werden und oft genug geheilt worden sind! Gewiß ist jeder einzelne solcher Unglücksfälle für den Kranken, für seine Familie und nicht zum wenigsten für den Arzt ein fürchterliches, erschütterndes Ereignis. Aber darf der Arzt deshalb Tausenden entziehen, was ihnen nützlich ist?

Mit genügender Vorsicht angewendet, ist das Salvarsan für fast alle Syphilispatienten — wie gesagt, mit verschwindend wenigen Ausnahmefällen — ein ungefährliches Heilmittel, das demgemäß auch bei allen Syphiliskranken in Frage kommen soll.

Leider machen die Patienten es den Ärzten oft sehr schwer, mit der ärztlich erwünschten Vorsicht vorzugehen. So ängstlich sie sind, wenn ihnen eine 606-Kur vorgeschlagen wird, so wenig wollen sie nachher die notwendigen Vorsichtsmaßregeln (Ruhen nach der Injektion, Vorsicht im Essen und Trinken des Abends und Morgens vor der Injektion), und die Vorschrift, mehrfach die Injektionen zu wiederholen und die unumgänglich notwendigen Intervalle inne zu halten, befolgen.

Manche Ärzte sagen aber: Wir haben ja gar nicht nötig, uns und unsere Patienten auch nur dem geringsten Risiko, wie es ja eingestandenermaßen doch bei der Salvarsanbehandlung vorkommt, auszusetzen; „das Quecksilber leistet ja alles, was wir brauchen und ist so gut wie ungefährlich".

Beiden Behauptungen muß ich entschieden widersprechen:

1. Das Quecksilber ist gewiß ein vorzügliches Heilmittel und ich will gern zugeben, daß bei wirklich genügend energischer und genügend reichlicher und genügend lange fortgesetzter Behandlung auch ein vollkommenes Heilresultat erzielt werden kann. Aber wieviel schwerer ist es, diese vollkommene und wirklich ausreichende Quecksilberkur durchzuführen im Vergleich zu einer ausreichenden Salvarsanbehandlung!

Die Durchführung der einzelnen Hg-Kur war bei weitem umständlicher und die von den meisten Syphilidologen akzeptierte chronisch-intermittierende Methode erforderte 4—5 Jahre in minimo!

Die Salvarsanbehandlung ist unendlich viel bequemer. Selbst bei einer Kombinationskur braucht der Patient sehr viel seltener zum Arzt zu kommen, und selbst wenn er bei jeder Salvarsaninjektion den halben oder ganzen Tag sich im Bett oder zu Hause verhält — eine Forderung, die durchaus nicht bei jedem Kranken und bei jeder Injektion aufgestellt werden muß, meist nur bei der ersten —, ist der Gesamtaufwand an Zeit für die Behandlung unendlich viel geringer, als bei rein mit Quecksilber durchgeführten Syphiliskuren. Insbesondere zeigt sich das bei Patienten, die sehr schnell nach der Infektion in Behandlung treten. Ist doch bei solchen Kranken in der Mehrzahl nur eine einzige längere Kombinationskur notwendig, während die Weiterbehandlung in nur von Zeit zu Zeit wiederholten Salvarsaninjektionen besteht. Bei reinen Quecksilberkuren würde ich mich aber nach wie vor auf den Standpunkt stellen, daß mehrfache energische Quecksilberkuren vorgenommen werden müssen, selbst wenn negative Wassermann-Reaktionen uns beweisen, daß wir gute Heilresultate erzielen.

Wenn ich von einer Kombinationskur von Salvarsan und Quecksilber spreche und sie für ungemein leicht durchführbar erkläre, so denke ich allerdings daran, daß ich alle meine Kuren als Kombination der bequemen Kur mit Oleum cinereum, ev. Asurol und Salvarsan mache. Da es sich als gänzlich unschädlich herausgestellt hat, die grauen Ölinjektionen an demselben Tage wie die Salvarsaninjektion vorzunehmen, so kann unter Umständen der Patient mit 5—6 Besuchen beim Arzt auskommen. Bei manchen Patienten freilich muß man die Gesamtdosis des Salvarsans wie des Quecksilbers auf eine größere Anzahl von Einzeldosen verteilen, wodurch eine größere Anzahl von Einspritzungen notwendig wird. Wer allerdings glaubt, mit Einreibungen mehr zu erreichen, als mit Injektionen — einen Standpunkt, den ich nach keiner Richtung hin teilen und verstehen kann —, wird nach wie vor mit einer größeren Unbequemlichkeit für die Kranken zu rechnen haben.

Mancher wird mir vorwerfen, daß dieses rein äußerliche Moment der Bequemlichkeit einer Behandlung nicht in Betracht komme. Ich meine dagegen, daß bei der Behandlung von Tausenden von Kranken, die noch dazu aus allen möglichen Gründen verheimlichen wollen, daß sie wegen Syphilis behandelt werden, es geradezu von ausschlaggebender Bedeutung für den Gesamterfolg ist, ob die Kuren bequem und leicht und ohne Störung des Berufs durchgeführt werden können oder nicht. Es kommt alles darauf an, daß die Kuren von den Patienten nicht widerwillig durchgeführt werden; denn sonst werden wir nie und nimmer die Heilkraft der Mittel, die uns in die Hand gegeben sind, ausnutzen können. In der Eigenschaft des Salvarsans, daß wirksame Kuren mit viel weniger Einzelmaßnahmen durchgeführt werden können, sehe ich einen ganz besonderen Fortschritt der Entdeckung Paul Ehrlichs.

Es kommt hinzu, daß das Salvarsan namentlich bei intravenöser Zufuhr in absolut schmerzloser Weise appliziert werden kann, und ferner, daß, wie schon erwähnt, für die allermeisten Fälle ein Hospitalaufenthalt überflüssig wird oder auf ein Minimum reduziert werden kann. Jedes Krankenhaus, das Syphilitiker in Behandlung hat, wird feststellen können, daß der Durchschnittsaufenthalt des einzelnen Kranken seit 1910 sich ungemein verkürzt hat. Das gibt nicht nur eine gewaltige Ersparnis für die Krankenkassen, die Heeresverwaltung, die Gemeinden und für den Einzelnen, sondern ermöglicht auch einer viel größeren Anzahl von Syphiliskranken sich in, wenn auch vorübergehende, Hospitalpflege zu begeben.

Jedenfalls ist es jetzt unendlich viel leichter, eine Syphilisbehandlung mit wirklich vollem Heilerfolg zu Ende zu führen, als früher. Wenn auch jetzt noch an dem Prinzip einer „chronisch-intermittierenden Behandlung" festgehalten werden muß, so reicht doch im allgemeinen eine 1—$1\frac{1}{2}$jährige Behandlung aus, sich zusammensetzend aus 1 bis höchstens 2 Kombinationskuren und einigen von Zeit zu Zeit wiederholten Salvarsaninjektionen, während wir früher 4—5 Jahre mit 7—8 Kuren behandelten und bei jeder neuen Kur eine mehrwöchige Einzelkur notwendig war.

Und ich muß wiederholen, was ich oben schon sagte: Selbst wenn die Patienten sich der Behandlung nach der ersten Kur und im Verlaufe der anschließenden Monate entziehen, haben sie doch jetzt eine sehr viel größere Chance, entweder trotz der geringen Behandlung geheilt zu sein — was wir freilich nicht kontrollieren können — oder trotz der Spirochätenremanenz von Rezidiven und Nachkrankheiten verschont zu bleiben.

Schließlich genügt doch ein Blick auf den gegenwärtigen Status der Syphilisverbreitung und der durch die Syphilis bedingten Morbidität und Lebensverkürzung, um klar zu machen, daß der bisherigen Therapie trotz ihrer Erfolge doch wohl noch erhebliche Mängel anhaften!

2. „Das Quecksilber soll aber viel ungefährlicher sein, als das Salvarsan." — Auch das ist eine Behauptung, die bestritten werden muß. Beim Gros der Menschen werden milde Salvarsankuren ebenso ungefährlich sein wie milde Quecksilberkuren. Wer aber wirklich energische und entsprechend wirksame Quecksilberkuren durchführt, der weiß, wie häufig er mit schwerster Stomatitis, Enteritis und Alteration der Nieren zu kämpfen hat; Erscheinungen, die sicherlich durch ihre Chronizität und die subjektiven und objektiven Beschwerden und Dauerschädigungen oft viel störender sind, als die mit Salvarsanbehandlung verbundenen Zufälle.

Gerade aber die Individuen, welche eine Quecksilberidiosynkrasie besitzen, sind es, für welche das Salvarsan von unendlichem Segen ist. Früher mußte man solche Menschen wochenlang durch Anwendung kleinster Dosen erst an das Quecksilber gewöhnen, ehe man zur Applikation heilkräftiger Quecksilbermengen schreiten konnte. Oft genug verging darüber sehr kostbare Zeit während welcher der syphilitische Prozeß z. B. am Auge, am Gehirn irreparablen Schaden anrichtete.

Und zu dieser Gruppe von Syphilitikern gesellt sich eine andere Gruppe, bei welcher anscheinend eine Unempfindlichkeit gegen Quecksilber vorliegt, wo also Quecksilberkuren ohne jeden Erfolg verlaufen. Auch für solche Fälle ist das Salvarsan von unendlicher Bedeutung.

Es ist hier nicht der Platz, auf die Einzelfragen der Behandlungstechnik und -methodik einzugehen. Bestehen auch gewisse Abweichungen unter den Anschauungen der verschiedenen Autoren, so besteht doch im großen Ganzen eine Einigkeit über die Methode der Salvarsanzufuhr, über die Größe der Anfangsdosen, der Maximaldosis und Gesamtdosis, über die Zahl der Injektionen für die erste Kur, über die Notwendigkeit gewisser Intervalle zwischen den Injektionen, über die besonderen Eigenschaften des Alt- und des Neosalvarsans, über die Herstellung der Lösungen und deren Reaktionen, über alle die Maßnahmen, durch welche die schweren Störungen vermieden werden können, usw.

Ebensowenig ist es am Platze, über die Technik und die Methodik der Kombinationstherapie mich auszulassen. Das Wichtigste ist,

daß im ganzen eine Einigkeit über die Hauptprinzipien der durch die Salvarsanentdeckung ermöglichten Behandlungsweise erzielt ist; Prinzipien, die sich in den Schlagworten:

**1. man behandle möglichst zeitig!**

**2. man behandle möglichst energisch!**

**3. man behandle ohne Optimismus in gewisser Weise chronisch-intermittierend!**

zusammenfassen lassen.

**Und was leistet diese durch das Salvarsan ermöglichte Therapie für die Bekämpfung der Syphilis?**

Wir verdanken ihr rapides Überhäuten und schnellste Beseitigung bestehender primärer und sekundärer Symptome und eine kolossale Verminderung der sekundären Rezidive, also derjenigen Erscheinungen, die durch ihre besondere Kontagiosität und ihre Lokalisation an dem Genitale und Mund für die Verbreitung der Syphilis am gefährlichsten waren. —

Wir verdanken ihr die Möglichkeit, alle recht bald nach der Infektion in Behandlung tretende Fälle sofort zu heilen.

Damit aber verdanken wir dem Salvarsan eine Verminderung der Infektionsquellen, und eine solche muß zu einer Verminderung der Syphilisverbreitung führen, sowohl auf genitalem und extragenitalem, wie auf dem Wege der intrauterinen Übertragung.

**Die Salvarsantherapie ist also nicht nur von eminent kurativem Erfolg, sondern ist auch eine eminent wirksame prophylaktische Maßregel.**

Die Salvarsantherapie muß aber auch zu einer Abnahme der mehr oder weniger unheilbaren Spätformen führen, und sie muß vermindern die Zahl der Unglücksfälle, die entstehen durch die, namentlich im Frühstadium auftretenden, Syphilislokalisationen an besonders wichtigen Organen, deren anatomische wie funktionelle Integrität von besonderer Bedeutung ist; also: alle Erkrankungen an Augen und Ohren, an den Gefäßen, den Hüllen der nervösen Zentralorgane, den Knochenkanälen und -fissuren im Schädel und Rückenmarkskanal. Bei diesen Affektionen spielt oft jeder Tag einer früher einsetzenden Rückbildung eine große Rolle für die Erhaltung und Wiederherstellung der normalen Funktion.

Auf die besonderen Heilerfolge, die wir bei Tabes, bei Aorten-Erkrankungen jetzt besser als früher erzielen können, will ich nur mit diesen wenigen Worten hindeuten. —

So bin ich denn am Ende angelangt. Überfliege ich diese Seiten, so lege ich mir die Frage vor: Sind sie nicht zu subjektiv gefärbt? Hat nicht die fast 50jährige Freundschaft — seit 1865 haben sich unsere Wege nie getrennt —, die mich mit Paul Ehrlich verbindet, mir den Blick getrübt und mein Urteil bestochen? Ich glaube mich aber von diesem Vorwurf — und für mich, der ich ein kritischer Forscher sein soll und will, wäre ein solcher Mangel an Objektivität ein schwerer Vorwurf — vollkommen frei. Ich bin nicht nur seit der Quarta des Gymnasiums neben Ehrlich einhergegangen, sondern ich habe mit ihm gelebt und an allen seinen Arbeiten und der Entwicklung seiner Ideen teilgenommen, habe sie Schritt für Schritt verfolgt und weiß, in wie penibler und kritischer, aber auch zielbewußter Weise er gearbeitet hat. Und in der Tat, wenn das Wort „zielbewußt" je auf irgendeinen Menschen anwendbar ist, so sicherlich auf keinen mehr, als auf Paul Ehrlich. Denn schließlich ist es im Prinzip ganz gleich und entsprang ja derselben Forschungsrichtung, ob er gewisse Granula in den Leukocyten durch Eosinfärbung usw. als besondere chemische Stoffe feststellen konnte, oder ob er im lebenden Körper die Achsenzylinder mit Methylenblau färbte, oder ob er das spirillotrope Salvarsan herstellte. Seit 40 Jahren weiß ich, daß er „zielen lernen" wollte, und so war ich denn, wie ich gern zugebe, von vornherein überzeugt, daß, als Paul Ehrlich uns sein Salvarsan übergab, er einen richtigen Treffer gemacht haben würde. Aber dieser Glaube an den Forscher hat mich nicht abgehalten — und mein Freund Ehrlich wird es mir bestätigen —, ihn immer wieder mit kritischen Bemerkungen zu überfallen, und sicherlich war ich der erste, der ihm, anscheinend seinen Ruhm schmälernd, die Notwendigkeit einer Kombinationstherapie für die Praxis vorhielt. Aber diese Kombinationstherapie ist nicht dadurch entstanden, daß wir das Salvarsan zum Hg hinzutun, sondern daß wir in die glückliche Lage kamen, die an sich schon großartige Wirkung des Salvarsans durch die Hinzufügung des Hg zu sichern und zu unterstützen. — **Haben wir bis jetzt in einer Zeit steigender Syphilisverbreitung gelebt, so haben wir jetzt die begründete Hoffnung, eine gewaltige Herabsetzung der Syphilisseuche zu erreichen. Und das verdanken wir der „Chemotherapie" und deren Begründer, dem als Mediziner wie als Chemiker gleich schöpferischen Paul Ehrlich!**

2.

# Chemotherapeutische Studien.

Von

**J. Morgenroth,**

Berlin.

Die experimentelle Chemotherapie ist das jüngste Arbeitsgebiet Ehrlichs. Hier war es ihm in einer Periode zehnjährigen Schaffens vergönnt, jene ideale Vereinigung chemischer und biologischer Forschung zustande zu bringen, die ihm alle Zeit als Ziel vorgeschwebt hatte. Wenn auch von Anfang an das Kennzeichen seiner Arbeitsweise die gleichzeitig mit kühner gedanklicher Konzeption und mit nüchternem Blick für technische Möglichkeiten versuchte Anwendung chemischer Prinzipien auf die Biologie bildete, so war sich wohl niemand klarer bewußt als Ehrlich selbst, daß auf seinen früheren Forschungsgebieten das erstrebte Ideal ferne gerückt war und in dem Zeitraum, der der Arbeit eines Mannes gesteckt ist, nicht erreichbar sein konnte.

Der nicht selten mit einer gewissen Schroffheit vorgenommene Wechsel des Arbeitsgebietes entsprang keineswegs äußeren Umständen, die für Ehrlichs Richtung wohl nie maßgebend gewesen wären, auch nicht etwa einer vorzeitigen Erschöpfung des von ihm urbar gemachten Bodens, auf dem noch Generationen von Forschern reichliche Früchte ernten werden. Es waren vielmehr zwei im innersten Wesen der Dinge selbst begründete Momente, welche Ehrlich ein altes Arbeitsgebiet verlassen und ein neues ergreifen ließen. Was ihn gleichsam zwang, die weitere Bearbeitung eines zum guten Teil selbst geschaffenen Arbeitsgebietes, ohne ihm seine Neigung und sein Interesse zu entziehen, seinen oft durchaus erfolgreichen Nachfolgern zu überlassen, war wohl stets die nach jahrelanger Arbeit errungene Einsicht, daß hier zwar nicht die Forschungsmöglichkeit überhaupt, wohl aber die mit allen Mitteln versuchte Annäherung chemischer und biologischer Prinzipien zunächst eine Grenze

erreicht habe. Bald war es das weitere Vordringen auf dem biologischen Gebiet, dem sich unüberwindliche Schwierigkeiten entgegensetzten, bald konnte chemisches Denken und Experiment nicht der sich immer mehr häufenden Fülle und Verwicklung der biologischen Erscheinungen folgen. Das erstere Moment setzte seinen farbenanalytischen Studien ein Ziel, das letztere seinen Immunitätsstudien.

Ein Wechsel des Arbeitsgebietes bedeutete für Ehrlich wohl immer einen Akt der Resignation, aber auch zugleich den Beginn neuer Pläne, die der Erkenntnis entsprangen, daß sich jenseits der durch scharfe Kritik erkannten Grenze, oft noch im Nebel, ein neues Land zeigte, dessen Besitzergreifung dem Ziele näher zu führen schien.

Mit sicherem Blick erkannte Ehrlich neue Phänomene und versuchte technische Hilfsmittel, die ihm die Möglichkeit zu einer zielsicheren Expansion auf neue Gebiete darboten. So ging vom Trockenpräparat die Blutforschung, von der Entdeckung der Antitoxine durch Behring die Immunitätsforschung aus, die in Anlehnung an Bordets Entdeckung der Hämolysine von neuem einen mächtigen Aufschwung nahm.

In ganz analoger Weise ruht die technische Wurzel von Ehrlichs chemotherapeutischen Studien in dem von Laveran und Mesnil eingeführten Versuch an der trypanosomeninfizierten Maus.

Wer Gelegenheit hatte, mit Ehrlich zu der Zeit, als er noch in kleinen und bescheidenen Laboratorien mit wenigen Mitarbeitern tätig war, in nähere Berührung zu treten, der konnte von ihm oft genug die Äußerung hören, daß der Schwerpunkt seiner Tätigkeit in der geistigen Durchdringung und Durcharbeitung der Probleme liege, da ihm der Mangel an Mitteln nur die Anwendung der einfachsten Technik gestatte. Dieser Anwendung der möglichst einfachen Technik ist indessen Ehrlich auch unter günstigen äußeren Verhältnissen gerade auf dem Gebiet der Chemotherapie dauernd treu geblieben; denn auch dieses Prinzip war nicht, wie Ehrlich selbst wohl glaubte, durch äußere Umstände diktiert, sondern es lag in wesentlichen Zügen seines Geistes begründet. Einfachste Methodik in möglichst quantitativer Ausgestaltung beherrscht auch seine chemotherapeutischen Arbeiten. Das Prinzip ist für die wenigen Forscher, die ihm auf dieses schwierige Gebiet folgten, maßgebend geblieben.

Es vollzog sich hier eine Wandlung, wie sie auf den verschiedensten Gebieten der Biologie durch das Wirken Ehrlichs eingetreten ist: Zurückdrängen der Fehlerquellen durch den Massenversuch, Erhöhung der Variabilität und der Vergleichbarkeit der Versuche durch Verfeinerung des quantitativen Arbeitens. Wir erblicken dieselbe Erscheinung bei der

Wertbestimmung der Heilsera, den Forschungen über Hämolysine und der Karzinomforschung. In allen Fällen steht die denkbar einfachste Versuchstechnik der äußersten Kühnheit und scharfsinnigsten Durchführung der theoretischen Konzeption gegenüber.

Das Wesen dieser Methodik drückt Ehrlich (l. c. [7]) selbst treffend durch einen charakteristischen Vergleich aus:

„Es gibt gewiß viele Aufgaben, bei denen man durch Entwicklung einer besonderen geistigen Fähigkeit auch mit kleinen materiellen Mitteln wichtigste Resultate finden kann, ebenso wie es einem Fachmann auch möglich ist, ein kompliziertes Schloß mit einem Stückchen Draht zu öffnen; aber wo solche praktisch-therapeutische Aufgaben in Frage stehen, kommt man in dieser Weise nicht vorwärts. Hier ist die Tür so verriegelt und verrammelt, daß sie nur mit Gewalt gesprengt werden kann, ebenso wie eine Festung heute nicht mehr durch Verrat und einen kleinen Schlüssel, sondern nur noch durch Pulver und Geschoß erobert werden kann."

Betrachtet man Ehrlichs gesamte Tätigkeit unter dem hier skizzierten leitenden Gesichtspunkt, so darf man wohl behaupten, daß seine chemotherapeutischen Arbeiten den Höhepunkt seines Schaffens bedeuten, nicht weil sie ihn zu großen und praktisch wichtigen Entdeckungen führten, die schließlich bis zu einem gewissen Grad immer „ein Spiel des Ausprobierens und des Zufalls sein müssen"; vielmehr ist hier in einer bis dahin kaum geahnten Weise Ehrlich die mit heißem Bemühen erstrebte Vereinigung von Chemie und Biologie gelungen. So reich mit neuen Ideen ausgestattet Ehrlichs chemotherapeutische Forschungen auch erscheinen, sie sind dieser Grundidee untergeordnet, die sich durch sein gesamtes Schaffen hinzieht und die von Ehrlich von Beginn an zum klaren Ausdruck gebracht wurde.

Die chemische Grundlage der Chemotherapie fand er zunächst gerade in einem der am besten durchgearbeiteten Gebiete der organischen Chemie, das er von Anfang an verfolgt und wie nur ein Chemiker von Fach sich zu eigen gemacht hatte, der Farbchemie. Seine schöpferische Tätigkeit auf diesem Gebiet und dem Gebiet der organischen Arsenverbindungen wird an anderer Stelle geschildert.

Was die biologische Seite der Chemotherapie betrifft, so leistete der Versuch an Trypanosomen und später an Spirillen in bezug auf Übersichtlichkeit und Möglichkeit der Variation mehr, als man je von biologischen Vorgängen hätte erwarten können, deren innere Komplikation ja schließlich doch unübersehbar blieb. Noch nie hat wohl vorher ein Forscher Organismen von so weitgehender Beeinflußbarkeit zum Experiment geboten erhalten, allerdings wohl auch niemals proteusartige Gebilde mit so sicherem Griff in Gesetze gebannt und experimentell bezwungen. Die Erforschung der Arzneifestigkeit

und der Serumfestigkeit zeigen Ehrlich, um ein Wort Goethes anzuwenden, als wahren „Direktor der Natur".

Es gibt kaum ein Gebiet von Ehrlichs Tätigkeit, welches in so augenfälliger Weise zeigt, daß Ehrlich nicht dem geistigen Typus des Gelehrten, sondern dem des Erfinders angehört, und zwar, um eine von Max Eyth aufgestellte Einteilung zu gebrauchen, des Erfinders erster Ordnung, der neue Ziele mit neuen Mitteln zu erreichen sucht. Dies ist vielleicht dem Umstande zuzuschreiben, daß sich hier seine Erfinderwerkstätte außerordentlich erweitert hat, und daß Ehrlich, den viele seiner Freunde bis dahin als eine Art weltentrückten und allein oder mit wenigen Mitarbeitern schaffenden, manchmal etwas phantastisch oder gar alchimistisch sich gebärdenden „Zauberer" kannten, allen Forderungen der praktischen Wirklichkeit gerecht wurde und sich mit zielsicherer organisatorischer Fähigkeit an die Spitze einer groß angelegten Institution setzte und deren für lange Zeit vorbildliche Ausgestaltung ins Leben rief. Man darf den durch Ehrlich geschaffenen Ausbau der Chemotherapie als den Sieg einer neuartigen Organisation betrachten. Ehrlichs weitschauende Idee, daß für chemotherapeutische Untersuchungen eigene Institute für Chemotherapie gegründet werden müßten, in denen die neuen Arzneimittel synthetisch erzeugt und geprüft werden, fand im Jahre 1906 ihre Verwirklichung, als für seine eigenen Forschungen durch die großartige Stiftung von Frau Franziska Speyer in Frankfurt a. M. das erste derartige Institut, das Georg Speyer-Haus, errichtet wurde.

Hier wirkt Ehrlich als ein Stratege der Wissenschaft, mit souveränem Blick das jeweilige Gefechtsfeld bestimmend und überblickend, und eine Schar ausgewählter Taktiker führend. Wenn man mit Moltkes Wort die Strategie als „ein System der Aushilfen" bezeichnet, so trifft auch dieser Ausdruck in vollem Maße auf Ehrlichs chemotherapeutische Tätigkeit, wie auf sein Wirken überhaupt, zu. Äußerste Beweglichkeit in der Wahl der Methoden, zweckmäßiger Wechsel der Angriffspunkte gegenüber den immer wieder dem suchenden Geist entfliehenden biologischen Erscheinungen, höchste Plastizität des Arbeitsplanes kennzeichnen, wie schon ausgeführt, seine gesamte Arbeit und besonders diese Phase seiner Entwicklung und machen es zu einem — nicht immer leichten — Genuß, sie im einzelnen zu verfolgen.

Im gegebenen Rahmen läßt sich Ehrlichs Gesamtleistung auf dem Gebiete der Chemotherapie natürlich nur in den hauptsächlichsten Zügen schildern. Ehrlich selbst hat in zahlreichen zusammenfassenden Vorträgen und Aufsätzen seine Anschauungen entwickelt und die Resultate seiner Forschungen mitgeteilt. Dieselben seien im folgenden

angeführt als die wichtigsten und unentbehrlichen Quellen, auf welche nicht jedesmal verwiesen werden kann:

1. Chemotherapeutische Trypanosomenstudien. Vortrag, gehalten in der Sitzung der Berliner Medizinischen Gesellschaft am 13. Februar 1907.[1])
2. Über die neuesten Ergebnisse auf dem Gebiete der Trypanosomenforschung. Vortrag, gehalten am 7. April 1909 in Berlin vor der Deutschen tropenmedizinischen Gesellschaft[2]).
3. Über Partialfunktionen der Zelle, Nobelvortrag, gehalten am 11. Dezember 1908 zu Stockholm[3]).
4. Über moderne Chemotherapie, Vortrag, gehalten auf der 10. Tagung der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft, Frankfurt a. M., 8. Juni 1908[4]).
5. Chemotherapeutische Studien, Harben Lecture, gehalten am 11. Juni 1907[5]).
6. Über den jetzigen Stand der Chemotherapie. Vortrag, gehalten vor der Deutschen Chemischen Gesellschaft am 31. Oktober 1908[6]).
7. Chemotherapie von Infektionskrankheiten. Fortbildungsvortrag[7]).
8. Aus Theorie und Praxis der Chemotherapie. Nach einem Vortrage in der 5. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie, Dresden, 5. Mai 1911[8]) [9]).
9. Grundlagen und Erfolge der Chemotherapie. Vortrag, gehalten in Stuttgart am 20. Februar 1911 im Deutschen Frauenverein vom Roten Kreuz für die Kolonien, Landesverband Württemberg[10]).
10. Chemotherapie. Vortrag, gehalten in Gegenwart Sr. Majestät des Kaisers in der Hauptversammlung der Kaiser Wilhelms-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften am 24. Oktober 1912[11]).
11. Adress in Pathology and Chemotherapeutics: Scientific principles, methods ands results[12]).

---

[1]) Berl. klin. Wochenschr., H. 9/12, **1907** [*93*].

[2]) Arch. f. Schiffs- und Tropenhygiene, **XIII**, 321, Beiheft 6, S. 91, **1909** [*110*]

[3]) Münch. med. Wochenschr., H. 5, **1909**, cf. auch Beiträge z. exper. Pathol. u. Chemotherapie, S. 203, Leipzig **1909** [*109*].

[4]) Beitr. z. exper. Pathol. u. Chemother., S. 165, Leipzig **1909** [*105*].

[5]) Ebenda, S. 97 u. Journ. of the Royal Inst. of public Health, **XV**, Nr. 8, **1907** [*101*].

[6]) Ber. d. deutsch. chem. Ges., **XLII**, 17, **1909** [*108*].

[7]) Zeitschr. f. ärztl. Fortbildg., **VI**, Nr. 23, S. 721, **1909** [*111*].

[8]) Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Ref., **L**, Beiheft, S. 94, **1911** [*132*].

[9]) Fol. Serologica, **VII**, 697, **1911** und Leipzig (Klinkhardt) **1911** [*134*].

[10]) Stuttgart (Enke) **1911** [*135*].

[11]) Soziale Kultur u. Volkswohlfahrt, S. 345. Berlin (Stilke), **1913** [*148*].

[12]) Lancet, **II**, Nr. 7, S. 445 u. Brit. med. Journ., Nr. 2746, S. 353, **1913** [*151*].

### 12. Ehrlich und S. Hata, Die experimentelle Chemotherapie der Spirillosen[13]).

Die ersten chemotherapeutischen Versuche wurden von Ehrlich gemeinsam mit Shiga[14]) an Mäusen ausgeführt, die mit Trypanosomen des Mal de Caderas (Trypanosoma equinum) infiziert waren. Sie schlossen sich an die Versuche von Laveran und Mesnil an, welche bereits die, allerdings vorübergehende, trypanozide Wirkung des Natrium arsenicosum und des menschlichen Serums bei trypanosomeninfizierten Mäusen erkannt hatten.

Die von Laveran und Mesnil in die Versuchstechnik eingeführte Verwendung der mit verschiedenen Trypanosomenarten infizierten Maus bildete einen bedeutenden Fortschritt und, wie schon bemerkt, geradezu den technischen Ausgangspunkt für die Entwicklung der experimentellen Chemotherapie in den Händen Ehrlichs, seiner Mitarbeiter und Nachfolger. Die Versuchsbedingungen sind die denkbar übersichtlichsten. Kulturverfahrenen kommen nicht in Betracht, die Infektion wird mit einem Tropfen Blut von Maus zu Maus übertragen, ihr Beginn und Ablauf ist mit Sicherheit und zwar innerhalb sehr geringer zeitlicher Schwankungen vorauszusagen. Endlich läßt sich der Stand der Infektion jederzeit an einem einfach hergestellten frischen Blutpräparat beurteilen. Ehrlich bedient sich seit vielen Jahren seines bekannten Naganastammes „Ferox", welcher bei der gewöhnlichen Art der Infektion Mäuse in drei Tagen unter schrankenloser Vermehrung der Trypanosomen im Blut tötet.

Die Durchführung dieses Trypanosomenversuchs in einem bis dahin nie geübten Umfange zeigt Ehrlich als den überlegenen Techniker, der es versteht, die einfachste Versuchsanordnung, deren Fehlerquellen gering sind, durch eine extensive und intensive Bearbeitung einem neuen Gebiete nutzbar zu machen. Mit der Vergrößerung des Maßstabes der Versuche geht eine Verfeinerung ihrer quantitativen Seite einher, die sich vor allem in einer sorgfältig durchgeführten Dosologie dokumentiert.

Der enge Zusammenhang des neuen Forschungsgebietes mit Ehrlichs altem Thema „Konstitution, Verteilung und Wirkung" kennzeichnet sich dadurch, daß zuerst Farbstoffe aus der Benzopurpurinreihe für diese therapeutischen Experimente herausgegriffen werden, die schon lange durch ihr eigentümliches Verhalten im Tierkörper

---

[13]) Berlin (Springer) **1910** [*180*].

[14]) Berl. klin. Wochenschr., H. 13/14, S. 329 u. 362, **1904** [*211*].

Ehrlichs Aufmerksamkeit erregt und auf eine mögliche therapeutische Verwendung hingelenkt hatten. Ich erinnere mich aus der ersten Zeit meiner Tätigkeit in Ehrlichs Laboratorium, mit welchem Interesse er — schon etwa sechs Jahre vor Beginn seiner chemotherapeutischen Arbeiten — Besuchern die mit Injektionen von Benzopurpurin behandelten Mäuse zeigte, die viele Wochen lang den Farbstoff im Körper zurückhielten und besonders durch die rot gefärbten Ohren auffielen. Die wenig giftigen Farbstoffe bleiben lange im Blutplasma gelöst und noch weit länger in Form körniger Ablagerungen über große Zellgebiete verteilt.

Dieses Verhalten wurde schon von Ehrlich und seinen Mitarbeitern beobachtet, später im Anschluß an Ehrlichs chemotherapeutische Arbeiten über Benzidinfarbstoffe und an die Arbeiten von Mesnil und M. Nicolle von Buffard (Ann. Inst. Pasteur 1906), der sich hierzu des noch zu erwähnenden Trypanblaus bediente, in einer bemerkenswerten Arbeit studiert. Er beschreibt eingehend das lange Verweilen des Farbstoffes im Blutplasma, die persistierenden Granula in den Zellen der gewundenen Harnkanälchen der Niere, in den Kupfferschen Sternzellen der Leber, im Bindegewebe zahlreicher Organe und konstatiert das auffallende Freibleiben des Nervensystems. Die Entfärbung der Tiere erfolgt in 2 Phasen: in der ersten verschwindet der Farbstoff aus dem Plasma, in der zweiten aus den Zellen.

Eine weitere Vertiefung erfuhren diese wichtigen Untersuchungen durch den leider so früh der Wissenschaft entrissenen E. Goldmann[15]), der, mit Ehrlich in jahrelanger Freundschaft verbunden, diesem in reichem Maße „Ermutigung, Anregung und Belehrung" verdankte. Goldmann bestätigte im wesentlichen die Resultate Buffards und ergänzte sie durch eine Anzahl interessanter Beobachtungen.

Durch diese Untersuchungen und durch die Erforschung der trypanoziden Funktion der Benzidin-Farbstoffe sind gerade auf diesem Gebiete unsere Kenntnisse über Verteilung und Wirkung besonders gründliche.

Mit größter Aufmerksamkeit beobachteten Ehrlich und Shiga auch die geringsten Wirkungen der injizierten Farbstoffe auf den Verlauf der Blutinfektion, und so konnten sie zunächst feststellen, daß ein Benzopurpurin, welches aus der Kombination von tetrazotiertem Benzidin und zwei Molekülen β-Naphthylaminodisulfosaurem Natrium gewonnen war, eine ganz schwache verzögernde Wirkung auf die Infektion ausübte.

Es trat nun eine wichtige Wendung für den weiteren Erfolg der chemotherapeutischen Arbeiten Ehrlichs ein, dadurch, daß das Interesse A. v. Weinbergs erregt wurde, der fortan in unablässigem, fruchtbarem Gedankenaustausch mit Ehrlich blieb; es kam so eine

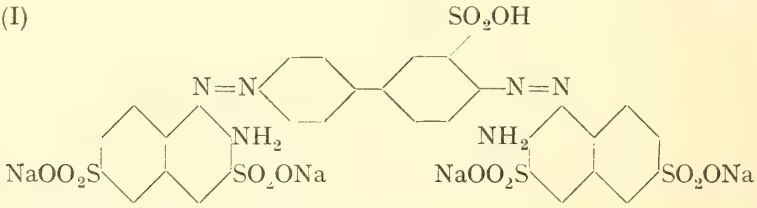
[15]) Beitr. z. klin. Chirurgie, **LXIV**, 192, **1909** [*351*].

Vereinigung der beiden, die Farbstoffchemie souverän beherrschenden Männer zustande, durch welche zudem noch die technische Leistung einer der ersten Farbenfabriken (Leopold Cassella & Co.) in den Dienst von Ehrlichs therapeutischen Ideen gestellt wurde.

Es tritt hier zum ersten Male die Chemie in systematischer Mitarbeit in den Dienst der Chemotherapie, und es ist die vorbildliche, organisatorische Leistung Ehrlichs, daß er in prinzipieller Weise für diesen Synergismus, der ein wesentliches Kennzeichen der neuen Richtung geblieben ist, das Programm feststellte. Ehrlich war sich durchaus im Klaren, daß das Auffinden einer neuen, bei irgendeiner Infektion wirksamen Gruppe von Verbindungen zunächst das Werk eines günstigen Zufalles ist, der allerdings nur durch unermüdliche experimentelle Arbeit provoziert werden kann. Sowie aber dieses Moment eintritt, hat die Chemie einzugreifen, um die Ausgangssubstanzen durch eingehende synthetische Versuche zu verbessern, „indem neue Gruppen eingeführt, andere eliminiert werden, und so eine Pluralität von Verbindungen erzielt wird, unter denen man die optimale heraussuchen kann" (l. c. [1]).

Die schwere Resorbierbarkeit des ersten, schwach wirksamen Benzopurpurins machten es Ehrlich und v. Weinberg wahrscheinlich, daß der trypanozide Effekt zu erhöhen wäre, wenn durch Einführung neuer Sulfosäuregruppen die Löslichkeit und damit auch die Diffusionsfähigkeit des Farbstoffs erhöht würde. Die Voraussicht bewährte sich als zutreffend und führte bald zu der Feststellung, daß in dem als Trypanrot bekannt gewordenen Farbstoff eine Verbindung von starker trypanozider Wirkung vorliegt. Das Trypanrot wurde erhalten durch die Kuppelung von zwei Molekülen β-Naphthylamindisulfosaurem Natrium (2-amido, 3,6-Sulfosäure) an ein Molekül tetrazotierter Benzidinmonosulfosäure (I):

(I)




Der Farbstoff bewährte sich im prophylaktischen Versuch und im Heilversuch gleich gut; ein Teil der mit Mal de Caderas infizierten und durch Trypanrot geheilten Mäuse blieb ohne Rezidiv; die Heilwirkung war der Wirkung des arsenigsauren Natriums und des Menschenserums weit überlegen. Die vor vielen Jahren von Ehrlich eingeführte, bei seinen Immunitätsstudien mit Erfolg benutzte Verfütterung des Farb-

stoffes (Kakesmethode, vgl. C, 4) bewährte sich auch hier besonders gut. Versuche mit Mal de Caderas an Ratten, Meerschweinchen und Hunden, mit Naganatrypanosomen an Mäusen verliefen weniger günstig.

Ehrlich erkannte bald nach vergeblicher Prüfung von Hunderten verschiedener Farbstoffe, daß die Fähigkeit, Trypanosomen abzutöten, eine begrenzte, an bestimmte Konstitutionen gebundene sein müsse.

Was den Wirkungsmechanismus des Trypanrots betrifft, so machten Ehrlich und Shiga die wichtige Beobachtung, daß auch relativ hohe Konzentrationen im Reagenzglas die Trypanosomen nicht abtöten. Sie waren deshalb geneigt, anzunehmen, daß nach Einführung des Farbstoffes in den Tierkörper Reaktionsprodukte von passagerem Charakter entstehen, die erst ihrerseits die Trypanosomen abtöten, daß also dem Trypanrot selbst eine unmittelbare trypanozide Wirkung nicht zukomme.

Die Richtigkeit einer ähnlichen, allerdings durch chemische Beziehungen gestützten Anschauung wurde später für die Wirkung gewisser Arsenverbindungen, der Derivate der Phenylarsinsäure, wahrscheinlich. Für die Benzidinfarbstoffe erschien es Ehrlich (l. c. [2]) späterhin rationeller, eine Hemmung der Zellteilung und damit der weiteren Vermehrung anzunehmen, wobei die Voraussetzung gemacht wurde, daß diese allein genüge, um ein Zugrundegehen der Trypanosomen durch die Wirkung der Körpersäfte zu veranlassen. Für die Annahme einer derartigen Entwicklungshemmung boten Beobachtungen von Busck eine Stütze, der festgestellt hatte, daß freilebende Ciliaten in einer Lösung von Trypanrot ihre Vermehrung durch Teilung einstellen, ohne in ihrer Motilität gestört zu werden.

Bei der Heilung der Mäuse mit Trypanrot beobachteten Ehrlich und Shiga das zweifellose Auftreten einer Immunität, die 20 bis 30 Tage andauerte und dann abklang. Die unter dem Einfluß des Farbstoffes abgetöteten Trypanosomen gaben offenbar zur Bildung von Immunsubstanzen und damit zur Entstehung einer aktiven Immunität Anlaß. Die Rezidive sollten nach der ursprünglichen Anschauung von Ehrlich dann eintreten, wenn die Neubildung von Immunsubstanzen aufhört, so daß in gewissen Organen überlebende Trypanosomen sich von neuem vermehren und ins Blut gelangen konnten.

Anstelle dieser einfachen, den altbekannten Tatsachen und überkommenen Vorstellungen entsprechenden Auffassung der Rezidive mußte Ehrlich bald ganz andere, eigenartige Anschauungen setzen, die zugleich Licht auf neue, bis dahin kaum denkbare, biologische Funktionen der Trypanosomenzelle warfen.

Die Versuche über die Wirkung des Trypanrots wurden von Ehrlichs Mitarbeiter Franke[16])[17]) weitergeführt unter besonderer Berücksichtigung der Immunitätserscheinungen. Zunächst stellte Franke exakte Versuche über die Dauer der Immunität an. Es erschien zweifelhaft, ob das nach dem Verschwinden der Trypanosomen aus dem Blut eintretende Rezidiv die Dauer der Immunität anzeigt, da die Zeit seines Eintritts von der unter Umständen sehr geringen Zahl der in den Organen überlebenden Trypanosomen abhängen und vor allem dadurch hinausgeschoben werden kann, daß diese Trypanosomen durch die vorhergehende Einwirkung des trypanoziden Agens in einer Art von Torpor oder Abschwächung sich befinden, wodurch ein Auskeimen an und für sich verzögert würde. Es erschien deshalb rationeller, in gewissen Zeitabständen nach dem primären Verschwinden der Trypanosomen aus dem Blut eine Neuinfektion zur Prüfung der Immunität vorzunehmen. Hierbei zeigte sich, daß die aktive Immunität, welche nach Heilung von der ersten Infektion zurückbleibt, etwa 18 bis 20 Tage anhält.

Die Heilung von Kaninchen, die mit Mal de Caderas infiziert waren, mit intravenöser Injektion von Trypanrot gelang nicht, wohl aber mit der schon von Laveran erprobten Kombination von Trypanrot und arseniger Säure bei öfterer Anwendung im rezidivfreien Intervall, ja sogar bei einmaliger Behandlung; auf dieselbe Weise gelang es, einen Affen zu heilen. Auch Thomas erzielte in Anschluß an Laverans und Frankes Versuche günstige Resultate mit der Kombination von Trypanrot und arseniger Säure.

Besonderes Interesse boten die Immunitätsverhältnisse bei dem geheilten Affen, die ausführlicher besprochen werden müssen, weil sie den Ausgang für die neue Betrachtungsweise der Immunitätserscheinungen bildeten.

Das Serum des geheilten Affen hatte eine deutliche schädigende Wirkung auf Mal de Caderas-Trypanosomen schon in vitro; wurden Trypanosomen-Serumgemische Mäusen injiziert, so blieb die Infektion aus. Es konnte demnach auf einen hohen Gehalt des Serums an Antikörpern geschlossen werden.

Die naheliegende Erwartung aber, daß der Affe entsprechend dem Antikörpergehalt seines Serums nun auch selbst gegen eine erneute Infektion mit denselben Parasiten immun sei, erwies sich nicht als zutreffend. Die Neuinfektion ging an, das frische Blut des Affen infizierte

[16]) I.-D. Giessen **1905** [*349*].

[17]) Münch. med. Wochenschr., H. 42, **1905** [*348*].

entsprechend seinem Trypanosomengehalt Mäuse, aber sein durch Erwärmen von lebenden Trypanosomen befreites Serum übte — bei gleichzeitiger Injektion mit trypanosomenhaltigem Mäuseblut — wiederum eine Schutzwirkung aus.

Dieses Resultat konnte nur so erklärt werden, daß die Parasiten, indem sie sich in dem Immunsubstanzen enthaltenden Blut des Affen in Anschluß an die Reinfektion entwickelten, andere biologische Eigenschaften angenommen hatten und für die Schutzstoffe unempfindlich geworden waren.

Das hier zum ersten Male bei den experimentellen Trypanosomeninfektionen auftretende Phänomen beschäftigte weiterhin Ehrlich andauernd und war der Ausgangspunkt für Versuche und Überlegungen höchst bedeutsamer Art, auf die noch des Genaueren einzugehen ist (s. S. 578).

Das Trypanrot selbst erwies sich weiterhin nicht als der gesuchte optimale Benzidinfarbstoff. Es erregte die verdiente, weitgehende Aufmerksamkeit, zeigte sich aber in seiner Wirkung begrenzt. Eine ähnlich günstige Wirkung wie bei Mal de Caderas entfaltete es bei Behandlung von Mäusen, die mit Mboritrypanosomen (Laveran, Franke) und mit Dourinetrypanosomen (Halberstaedter) infiziert waren. Bei oftmaliger Behandlung gelang auch die Heilung von Mäusen, die mit Surratrypanosomen infiziert waren (Laveran), dagegen nicht von Naganamäusen (Ehrlich und Shiga, Halberstaedter, Franke, Thomas). Ebenso scheiterte die Behandlung bei der Infektion von Ratten und anderen Tieren mit Trypanosoma gambiense.

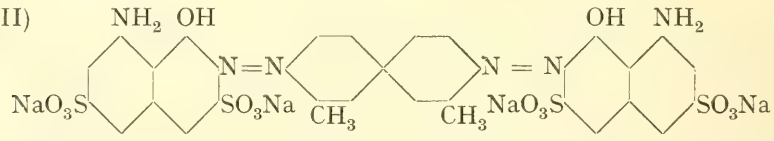
Man muß die Bedeutung des Trypanrots für die Entwicklung der experimentellen Chemotherapie sehr hoch anschlagen. Zunächst lenkte es die Aufmerksamkeit wieder auf die ganze Gruppe der Farbstoffe, die bekanntlich schon einmal, als das von Ehrlich auf breiter Basis biologisch erforschte Methylenblau bei der Malariatherapie angewandt wurde, in dieser Richtung Interesse erregt hatte (vgl. Ehrlich und Guttmann[18]). Besonders bemerkenswert dürfte aber der schon erwähnte, wichtige Umstand sein, daß dem Trypanrot — im Gegensatz zu der arsenigen Säure — trotz seiner Wirkung innerhalb des Tierkörpers keine Desinfektionskraft im eigentlichen Sinne, keine Wirkung auf die Trypanosomen in vitro zukam. Mit dieser Beobachtung wurde wohl zum ersten Male das Vorurteil erschüttert, wenn auch noch nicht völlig gebrochen, daß nämlich die Mittel zur „inneren Desinfektion" unter den allgemeinen Des-

[18]) Berl. klin. Wochenschr., H. 39, **1891** [*176*].

infektionsmitteln gesucht werden müßten. Denn selbst das Chinin, dem übrigens eine erhebliche Wirkung auf Protozoen (Binz), speziell auf Malariaparasiten (Mannaberg) in vitro zukam, wurde als ein derartiges allgemeines Desinfektionsmittel betrachtet. Für die Desinfektion bei bakteriellen Infektionen war die Richtung auf die allgemeinen Desinfizientien selbst den besten Forschern verhängnisvoll geworden. Daß auch hier, ebenso wie bei den Protozoeninfektionen, nach spezifischen Heilmitteln mit Erfolg gesucht werden kann, zeigte sich erst in der weiteren Entwicklung der Chemotherapie.

Es muß an dieser Stelle auf die theoretisch wertvolle und praktisch erfolgreiche Fortsetzung der von Ehrlich inaugurierten Versuche mit Benzidinfarbstoffen eingegangen werden, die wir F. Mesnil und M. Nicolle, den ausgezeichneten Forschern des Institut Pasteur in Paris (Ann. Inst. Pasteur 1906), verdanken. Die beiden Autoren untersuchten systematisch die Wirkung einer sehr großen Anzahl von Benzidinfarbstoffen, über welche die chemische Industrie bereits verfügte. Es ergab sich, daß eine kleine Anzahl von Farbstoffen dem Trypanrot mehr oder weniger überlegen ist. Als optimale Farbstoffe ragten unter diesen eine aus tetrazotiertem Dichlorbenzidin erhaltene Verbindung und das unter dem Namen Trypanblau bekannt gewordene Tolidinblau hervor, welches durch Kuppelung von 2 Molekülen einer 1-Amido, 8-Naphtol, 3,6-Disulfosäure an ein Molekül tetrazotiertes Tolidin entsteht. Zur Verwendung gelangt das lösliche Natriumsalz (II).

(II)




Die Einführung des Trypanblaus ist deshalb von besonderer Bedeutung, weil sie den Benzidinfarbstoffen eine wichtige Verwendung zur Bekämpfung einer tierischen Infektionskrankheit verschaffte und so dieser Farbstoffreihe, welche zunächst vorwiegend theoretisches Interesse besaß, eine erhebliche praktische Bedeutung verleiht. Versuche von Nuttall und Hadwen zeigten, daß bei einer durch endoglobuläre Blutparasiten verursachten Infektionskrankheit, der Piroplasmose, dem Trypanblau eine hervorragende Wirkung zukommt. Die Autoren experimentierten an Hunden, bei welchen übrigens auch das Trypanrot sich als wirksames Heilmittel erwies. Die ausgezeichnete Wirkung des Trypanblaus wurde dann in Theilers Laboratorium bestätigt, während dort das Trypanrot sich als weniger wirksam erwies. Nuttall und Hadwen gingen dann zu Versuchen an Rindern über, welche mit Piroplasma bigeminum infiziert waren; in derselben Richtung bewegten sich die Versuche von Stockmann. Die Untersucher waren sich darüber einig, daß das Trypanblau einen ausgesprochen günstigen Einfluß auf die Piroplasmose der Rinder ausübt. Theiler schloß sich auf Grund seiner Untersuchungen

dieser Anschauung an. Seitdem findet das Trypanblau, besonders in Südafrika, ausgedehnte Verwendung, sowohl zu Heilzwecken wie auch bei der Immunisierung der Rinder gegen Piroplasmose.

Das Trypanblau hat mit dem Trypanrot die konstitutive Eigentümlichkeit gemein, daß die am Naphthalinkern sitzenden Sulfosäurereste die Stellung 3,6 einnehmen. Wie Ehrlich (l. c. [1]) in Gemeinschaft mit v. Weinberg feststellte, nehmen in allen als wirkungsfähig erkannten Benzidinfarbstoffen die Schwefelsäurereste diese Position ein. Unter den Substitutionsprodukten des Trypanrots fanden sich einige, die gegenüber der Naganainfektion etwas besser wirkten, als das Trypanrot selbst; von besonderer Bedeutung zeigte sich die Substitution der Position 7 des Naphthalinkerns.

An die Erkenntnis, daß den Benzidinfarbstoffen eine chemotherapeutische Wirkung bei Trypanosomeninfektionen zukommt, schließt sich bald die Feststellung an, daß auch in der Klasse der Triphenylmethanfarbstoffe chemotherapeutisch wirksame Verbindungen vorhanden sind. Wendelstadt und Fellmer erzielten mit Malachitgrün und Brillantgrün Heilerfolge bei der Naganainfektion der Ratten, die zwar nicht völlig befriedigend, aber trotzdem von prinzipieller Bedeutung waren. Ehrlich hatte schon früher gemeinsam mit Shiga (l. c. [14]) der Malachitgrünreihe nahestehende sulfonierte Verbindungen untersucht, aber ebensowenig Erfolge gesehen wie Wendelstadt mit den Sulfosäuren des Malachitgrüns. Die Entgiftung dieses stark toxischen Farbstoffes unter Erhaltung der trypanoziden Wirkung ist offenbar undurchführbar. Dasselbe ist, wie Ehrlich in ausgedehnten Untersuchungen feststellte, bei der Einführung des Restes der Karbonsäure der Fall.

Schließlich erkannte Ehrlich nach einer großen Anzahl von Versuchen, daß unter den Triphenylmethanfarbstoffen dem Parafuchsin selbst und einem weiterhin zu besprechenden halogenierten Derivat desselben (Tryparosan) die relativ beste Wirkung zukommt, besonders bei Anwendung der Fütterungsmethode. Die Ausbeute an wertvollen Verbindungen, die sich aus der — von Ehrlich und seinen Mitarbeitern durchgeführten — Untersuchung von Hunderten von Verbindungen dieser Reihe ergab, war keine besonders glänzende, und Ehrlich selbst erwartete von dem Fuchsin nur eine Wirkung bei Kombination mit anderen trypanoziden Substanzen. Die theoretische Bedeutung, die in der Erkenntnis dieser weiteren Gruppe trypanozider Substanzen lag, erwies sich besonders bei dem noch zu besprechenden Studium der Arzneifestigkeit.

Bemerkenswert ist eine Erscheinung[19]), welche bei Trypanosomen eintritt, die in ungenügender Weise mit Fuchsin und Fuchsinderivaten behandelt sind. Es entwickelt sich bei diesen Trypanosomen eine biologische Veränderung, die als Mitigation zu bezeichnen ist und zu einer mit einem fortgesetzten Verschwinden und Wiedererscheinen der Trypanosomen im Blut verbundenen chronischen Infektion führt.

Einen Fortschritt gegenüber dem Parafuchsin bildete das schon erwähnte, von Benda in dem Laboratorium von Leopold Cassella & Co. dargestellte Tryparosan, welches von Ehrlichs Mitarbeiter Röhl (l. c. [19]) eingehend untersucht wurde. Seine Giftigkeit für Mäuse ist erheblich geringer, als die des Parafuchsins, und seine Wirkung in äquivalenten Mengen erheblich stärker. Wird dasselbe als ölsaures Salz gleichzeitig mit der Infektion an die Mäuse verfüttert, so erzielt man eine regelmäßige, dauernde prophylaktische Wirkung. Es zeigte sich ferner, daß der später noch zu besprechende, gegen Parafuchsin gefestigte Trypanosomenstamm von Tryparosan beeinflußt wurde; erst durch mehrfache Behandlung mit Tryparosan trat eine Festigung gegen diesen Farbstoff ein.

Versuche mit Tryparosan stellte auch Marks[19a]) an. Er führte diese und einige zum Vergleich geprüfte andere chemotherapeutische Substanzen nach einer von ihm ausgebildeten Methode Mäusen intrastomachal ein und erzielte mit einer einmaligen Gabe dauernde Heilungen. Das Tryparosan zeigte eine bedeutend stärkere Heilwirkung als Parafuchsin, Fuchsin und Atoxyl.

Die chemotherapeutische Wirkung auf Trypanosomeninfektionen, welche nach einer Mitteilung von Brieger und Krause einem Farbstoff aus der Safraninreihe, dem „Tryposafrol" zukommt, unterzog Ritz[19b]) in Ehrlichs Laboratorium einer Nachprüfung. Er konnte eine Heilwirkung des „Tryposafrol" bei Mäusen, Ratten, Meerschweinchen, die mit Trypanosoma Brucei infiziert waren, nicht feststellen, fand jedoch eine gewisse therapeutische Beeinflussung. Ähnlich wie bei den orthochinoiden Farbstoffen findet ein Verschwinden des Blepharoplasten statt. Es sei hervorgehoben, daß in einer neueren Mitteilung Brieger und Krause die Befunde von Ritz auf Grund weiterer Versuche nicht anerkennen.

Für seine Untersuchungen auf dem Gebiete der Arsenverbindungen, die bekanntlich in glänzenden Erfolgen gipfelten, fand

[19]) Vgl. Roehl, Zeitschr. f. Immunitätsforschung, **I**, 70, **1908/09** [*526*].

[19a]) Ztschr. f. Immunitätsforschung etc. **II**, 350, **1909** [*424*]. — Arbeiten a. d. Kgl. Institut f. exp. Therapie in Frankfurt a. M. H. 4, S. 31, **1908** [*420*]

[19b]) Berl. Klin. Wochenschr. H. 30, **1913** [*521*].

Ehrlich insofern schon Vorarbeiten vor, als, wie bereits erwähnt, Laveran eine vorübergehende Wirkung der arsenigen Säure auf trypanosomeninfizierte Mäuse beobachtet hatte. Wichtiger für die Entwicklung dieser Richtung war noch der Umstand, daß durch eine Anzahl von Forschern (Ayres Kopke, Broden und Rodhain, Robert Koch, Thomas, Breinl) die trypanocide Wirkung der unter dem Namen Atoxyl bekannten organischen Arsenverbindung sowohl bei der menschlichen Schlafkrankheit wie im Tierexperiment bekannt geworden war.

Der von Ehrlich benutzte hochvirulente Naganastamm war im Organismus der Maus durch Atoxyl nur sehr schwer beeinflußbar. Weitere systematische Versuche in Ehrlichs Laboratorium ergaben, daß gerade dieser Stamm besonders unempfindlich gegenüber Arsenverbindungen ist, daß derselbe geradezu als halbfest bezeichnet werden kann.

Aber in dieser biologischen Schwierigkeit lag keineswegs das entscheidende Hindernis für ein Fortschreiten der Forschung, vielmehr lag es auf rein chemischem Gebiet. Die Darsteller des Atoxyl hatten dieses als ein Metaarsensäureanilid aufgefaßt, eine Verbindung, welche für die Einführung chemischer Variationen, wie sie die systematische chemotherapeutische Forschung erforderte, schon durch die Besetzung der Amidogruppe mit dem Säureradikal keine Aussicht bot.

Zweifel an der Richtigkeit dieser Konstitutionsangabe entstanden bei Ehrlich, als er, einer seit Jahrzehnten geübten Gewohnheit — die ihn, wie beiläufig bemerkt sei, zu der Entdeckung der Diazoreaktion des Harns führte — folgend, die Substanz im Reagenzglas zu diazotieren versuchte und fand, das offenbar mit Leichtigkeit eine Diazoverbindung entstand, die sich mit den üblichen Komponenten zu gelben und roten Farbstoffen kuppelte, die noch den Arsenrest enthielten. Wenn auch dieses Verhalten nicht vollkommen unvereinbar mit der bisherigen Annahme war, so veranlaßte es doch eine eingehende chemische Untersuchung, die Ehrlich in Gemeinschaft mit Bertheim durchführte.

Sie ergab[20]), daß die Konstitution des Atoxyls, das inzwischen als die schon vor langer Zeit von Béchamp hergestellte Substanz erkannt worden war, eine ganz andere sei, und daß es das Natriumsalz der p-Amidophenylarsinsäure darstellt, für welche fortab der Name „Arsanilsäure" gewählt wurde. Wenn auch die Entwicklung dieses Gebietes von Ehrlichs chemotherapeutischer Arbeit von anderer Seite ausführlich geschildert wird (vgl. E, 3), so mußten wir doch auf diesen entscheidenden Punkt kurz eingehen, weil er für die eigenartige Arbeitsweise Ehrlichs ganz besonders charakteristisch ist.

[20]) Ber. d. Deutsch. Chem.-Ges., **XL**, 3292, **1907** [*162*].

Mit der Ermittlung der wahren Konstitution des Atoxyls war erst für weitere Forschung die Bahn gebrochen, und nun folgte in rastloser Entwicklung die chemische Ausarbeitung einer großen Anzahl organischer Arsenverbindungen. Dieselben sollen an dieser Stelle nur insoweit besprochen werden, als sie für die prinzipielle Entwicklung therapeutischer und biologischer Grundanschauungen maßgebend sind, während jene Richtung, welche zu der Chemotherapie der Spirillosen führt, flüchtiger gestreift werden soll.

Die Erkenntnis, daß das Atoxyl eine freie Amidogruppe enthält, legte es Ehrlich nahe, an eine Entgiftung dieser Verbindung durch verschiedene Eingriffe heranzugehen. Es lag hierfür ein besonderes praktisches Bedürfnis vor, da man bei der Behandlung der menschlichen Schlafkrankheit mit Atoxyl durch eine nicht vorauszusehende Giftwirkung auf das Unangenehmste überrascht worden war; größere, wiederholt verabreichte Dosen des Mittels führten unter Bedingungen, die nicht präzisiert werden konnten, in gewissen Fällen zu Sehnervenatrophie. Von den üblichen Wegen zeigte sich die Einführung von Sulfosäuregruppen in den Phenylrest als nicht gangbar, da sie zwar eine äußerst weitgehende Entgiftung, aber auch die Aufhebung jeglicher trypanoziden Wirkung zur Folge hatte.

Günstiger stellten sich die Resultate, als entsprechend dem vielfach geübten Verfahren die Entgiftung durch Einführung des Essigsäurerestes versucht wurde. Das acetylarsanilsaure Natrium, das unter dem Namen Arsacetin bekannt geworden ist, erwies sich bei Mäusen nicht nur als erheblich weniger giftig, sondern auch als bedeutend wirksamer als das Atoxyl. Die Hoffnung allerdings, mit diesem Präparat bei der Schlafkrankheit bessere Resultate mit Ausschluß der Nebenwirkungen zu erzielen, erfüllte sich nicht. Wie weitere Versuche in der Praxis zeigten, treten auch hier Sehnervenatrophien auf; schon für gewisse andere Tierspezies, z. B. Meerschweinchen und Pferde, ist das Arsacetin erheblich giftiger als für Mäuse.

Auf eine eigenartige Erscheinung, die bei Mäusen auftritt, welche mit Arsacetin behandelt sind, machten Ehrlich und Browning aufmerksam. Die Tiere zeigen Erscheinungen, wie man sie bei den bekannten japanischen Tanzmäusen beobachtet; sie führen dauernd Kreisbewegungen aus, während das Gleichgewicht nicht gestört ist — „künstliche Tanzmäuse" nach Ehrlich.

Nach Untersuchungen von R. Krause zeigt das innere Ohr dieser Tiere keine ausgesprochenen Veränderungen. Röthig[20a]) führte in Ehr-

[20a]) Röthig, P., Frankf. Ztschr. f. Pathologie, **III**, 267; **1909** [*529*].

lichs Laboratorium sorgfältige anatomische Untersuchungen des Zentralnervensystems dieser Tiere aus und fand erhebliche Zellveränderungen des Deitersschen Kerns, sowie des dorsalen und ventralen Acusticuskerns, ferner eine starke Degeneration im Nervus vestibularis, in zwei Fällen auch im Nervus opticus. Da nach Röthig auch bei normalen Mäusen eine leichte Degeneration des Nervus vestibularis beobachtet werden kann, nimmt er eine besondere Labilität des Vestibularisgebietes bei der Maus an, welche die Grundlage für die eigentümliche Lokalisation der Giftwirkung bietet.

Was nun die Wirkungsweise des Atoxyls und seiner Derivate betrifft, so wurde Ehrlich auf Grund von Beobachtungen zu Vorstellungen geführt, die, ziemlich komplizierter Natur, für die weitere Entwicklung dieses Gebietes von großer Bedeutung waren. Es zeigte sich vor allem, ähnlich wie bei den Benzidinfarbstoffen, daß dem Atoxyl und seinen Derivaten außerhalb des Tierkörpers im Reagenzglas kaum eine Wirkung auf Trypanosomen zukommt, und daß selbst in mehrprozentigen Lösungen die Parasiten längere Zeit ohne sichtbare Schädigung existieren können.

Diese Tatsache hatte zunächst zu der Hypothese geführt, daß nicht das Atoxyl als solches im Tierkörper wirksam sei, sondern daß dasselbe zunächst eine Verbindung mit Eiweißsubstanzen eingehen müsse, die dann erst ihrerseits wieder auf die Trypanosomen direkt einwirken.

Diese Anschauung hat sich nicht als richtig erwiesen und dürfte heute als überwunden anzusehen sein. Die Beobachtungen, welche für dieselbe zu sprechen scheinen, ordnen sich, wie noch zu besprechen ist, leicht der Anschauung Ehrlichs ein (vgl. hierzu Röhl[21])[22]).

Bei den Tierversuchen war es Ehrlich aufgefallen, daß die Giftempfindlichkeit der Mäuse gegenüber dem Atoxyl und seinen Derivaten außerordentlich wechselt, und daß ein gewisser Zusammenhang zwischen dieser Giftempfindlichkeit und der trypanoziden Wirkung des Atoxyl im Einzelversuch besteht. Bei Versuchstieren von geringer Empfindlichkeit war auch die trypanozide Wirkung geringer. Versuchstiere, die besonders hochempfindlich waren, starben an der Vergiftung, während ihr Blut von Trypanosomen vollständig frei war.

Aus dieser Erscheinung, zusammen mit der Wirkungslosigkeit des Atoxyls im Reagenzglas schloß Ehrlich, daß die Verbindungen vom Typus des Atoxyls nicht als solche im Tierversuch trypanozid wirken sondern daß ein Umwandlungsprodukt besonderer Art ent-

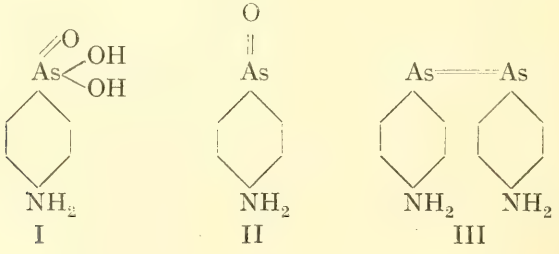
[21]) Berl. klin. Wochenschr., H. 11; **1909** [*525*].
[22]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **II**, 496, **1909** [*528*].

stehen müsse, welches gleichzeitig für die Trypanosomen und für den tierischen Organismus von besonderer Giftigkeit sei. Der nächstliegende Gedanke war für Ehrlich der, daß eine Reduktion des Moleküls im Organismus stattfinde.

Die Verschiedenheit der Arsenempfindlichkeit beruht, wie Ehrlich feststellte, auf einer konstitutionellen Eigenschaft der einzelnen Versuchstiere. Es handelt sich offenbar darum, daß die Fähigkeit, Verbindungen vom Typus der Arsanilsäure zu einer gleichzeitig toxisch und trypanozid wirkenden Verbindung zu reduzieren, bei verschiedenen Individuen verschieden, für jedes Individuum aber dauernd ziemlich konstant ist. Analoge Beobachtungen haben schon Nencki und Sieber bezüglich der oxydativen Leistungen der Organismen gemacht, indem sie feststellten, daß die von demselben Tier und demselben Menschen nach Eingabe von Benzol gebildete Menge Phenol lange Zeit konstant bleibt, während die einzelnen Individuen unter sich erhebliche Differenzen zeigen.

Im Verfolg seiner Hypothese wurde Ehrlich zur Untersuchung einiger weiterer Typen von Arsenverbindungen geführt, deren Ergebnis seiner Anschauung völlig recht gab und die für die Weiterentwicklung der Chemotherapie entscheidende Aufklärung über den Wirkungsmechanismus dieser Verbindungen brachte.

Man gelangt durch Reduktion der Arsanilsäure und ihrer Derivate zu Verbindungen, welche die zwei wichtigsten Typen der chemotherapeutisch wirksamen Arsenverbindungen charakterisieren. Geht man von der p-Amidophenylarsinsäure (Formel I) aus, so sind die beiden Reduktionsstufen als p-Amidophenylarsenoxyd (Formel II) und als p-Amidophenylarsenobenzol (Formel III) zu bezeichnen. Der markanteste chemische Unterschied zwischen dem Typus I einerseits, den Typen II und III andererseits besteht darin, daß durch die Reduktion das fünfwertig gebundene Arsen nunmehr dreiwertig gebunden ist.




Reagenzglasversuche[23]) nun, welche mit einer großen Zahl von Arsen-

[23]) Vgl. Neven, I.-D. Bern, **1909** [*491*].

oxydverbindungen (Typus II) angestellt wurden, zeigten, daß tatsächlich diesen Reduktionsprodukten eine ungemein starke trypanozide Kraft in vitro zukommt, während der Tierversuch ergab, daß gleichzeitig die Toxizität gegenüber den Versuchstieren eine außerordentliche Steigerung erfahren hat.

Hiermit war die Wahrscheinlichkeit, daß Ehrlichs Erklärung für die Wirkungsweise des Atoxyls und seiner Derivate zutreffe, außerordentlich groß geworden und ein für die weitere Forschung entscheidendes heuristisches Prinzip gefunden: Eine direkte chemotherapeutische Wirkung kommt lediglich denjenigen Typen organischer Arsenverbindungen zu, in welchen das Arsen dreiwertig gebunden ist. Die Verbindungen vom Typus der Phenylarsinsäure sind nur insofern wirksam, als sie im Organismus zu Verbindungen mit dreiwertigem Arsen reduziert werden.

Durch diese wohlbegründete Anschauung finden nun auch die Versuche von Levaditi und Yamanouchi ihre Erklärung, welche ergeben hatten, daß Atoxyllösungen in Kontakt mit Leberemulsionen eine trypanozide Wirkung in vitro gewinnen. Es ist nicht nötig, Levaditi in seinen an und für sich fesselnden Ausführungen zu folgen und die Bildung einer Eiweißverbindung des Reduktionsproduktes des Atoxyls anzunehmen, welche auch im tierischen Organismus entstehen kann und ihrerseits erst die trypanozide Wirkung entfaltet. Vielmehr ist im Sinne der Ehrlichschen Auffassung zu vermuten, daß es sich hier um ausschließlich reduzierende Einflüsse der Organemulsionen handelt, die, entsprechend den Vorgängen im lebenden Tier, zur Bildung der trypanozid wirkenden Verbindungen mit dreiwertigem Arsen führen. Die Vorgänge dürften analog verlaufen, wie bei der Reduktion des Atoxyls durch Thioglykolsäure, welche, wie Friedberger gezeigt hat, zu trypanoziden Verbindungen, die in vitro stark wirksam sind, führt. Nach Bertheim (s. Roehl (l. c. [21]) entsteht zunächst das p-Amidophenylarsenoxyd, das dann analog der arsenigen Säure mit der überschüssigen Thioglykolsäure zu einer p-Amidophenylarsenthioglykolsäure zusammentritt.

In einer besonderen Mitteilung hat Roehl (l. c. [21]), gestützt auf Versuche von Neven, noch zu der Anschauung von Levaditi kritisch Stellung genommen und darauf hingewiesen, daß gerade die am stärksten trypanozid wirkenden Verbindungen vom Typus des Phenylarsenoxyds durch Digestion mit Leberemulsion eine Abschwächung ihrer Wirkung erfahren, die er durch eine Bindung an die Leberzellen erklärt. Nach Levaditis Anschauung wäre im Gegenteil zu erwarten, daß gerade bei

diesen Verbindungen durch die Reaktion mit dem Lebereiweiß besonders hochwirksame Produkte entstehen.

In der gleichen Mitteilung bespricht Roehl einige Einwände, die von Uhlenhuth gegen Ehrlichs Reduktionstheorie gemacht worden sind. Uhlenhuth bemerkt vor allem, daß bei den hochgradig atoxylempfindlichen Tieren (Pferd, Hund) die Heilwirkung des Atoxyls gleichzeitig besonders gesteigert sein müsse, während tatsächlich das Gegenteil der Fall ist, da ja sowohl für diese letztere, wie für die Toxizität von Ehrlich die Reduktion der Arsanilsäurederivate zu den gleichzeitig wirksamen und hochtoxischen dreiwertigen Verbindungen verantwortlich gemacht werde. Roehl bemerkt mit Recht, daß diese Schlußfolgerung den Fehler begeht, das Moment der Verteilung im Tierkörper nicht genügend zu beachten, daß für die Beziehungen zwischen Toxizität und trypanozider Wirkung nicht ausschließlich die jeweils gebildete Menge der Reduktionsprodukte, sondern auch deren Verteilung zwischen Trypanosomen und Körperzellen maßgebend sei, die bei den empfindlichen Versuchstieren stark zugunsten der letzteren verschoben sein dürfte. Bei diesen Tierarten werden nicht mehr Reduktionsprodukte gebildet, sondern sie sind besonders empfindlich gegen die Reduktionsprodukte.

Im allgemeinen handelt es sich also bei den chemotherapeutischen Wirkungen zweifellos um eine unmittelbare Beeinflussung der Parasiten; sekundär kann natürlich, wie Ehrlich von Anfang an voraussetzte, die Bildung von Antikörpern, die durch die Antigene der zerstörten Parasiten ausgelöst wird, eine Rolle spielen. Es ist in dieser Hinsicht besonders bemerkenswert, daß das Dioxydiamidoarsenobenzol — wie dies von Agazzi schon früher für andere Arsenverbindungen festgestellt wurde — die Produktion von Antikörpern unter sonst gleichen Umständen erheblich steigern kann.

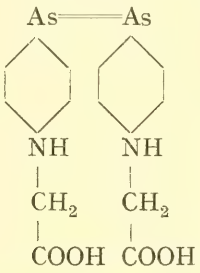
In Anschluß an frühere Versuche von Friedberger und Masuda, sowie von Strubell konnte Boehncke[23a]) in Ehrlichs Laboratorium feststellen, daß die von Friedberger und Masuda für das Salvarsan festgestellte Fähigkeit der Steigerung der Produktion der agglutinierenden Antikörper bei Kaninchen, Meerschweinchen und Ziegen in gleichem Maße zutrifft für die Antitoxine, die bakteriziden Antikörper, die Bakteriotropine und die Präzipitine. Die komplementbindenden Antikörper erfahren keine Zunahme.

Es dürfte demnach Ehrlichs Annahme zutreffen, daß durch die erhöhte Produktion der Antikörper eine sekundäre Wirkung die primäre antiparasitäre Wirkung in erheblichem Maße unterstützt.

---

[23a]) Ztschr. f. Chemotherapie etc. **I**, 136; **1912** [*307*].

Ging nun Ehrlich von den Derivaten des Phenylarsenoxyds zu den Abkömmlingen des Arsenobenzols über, so stellte es sich heraus, daß die Giftigkeit gegenüber den Versuchstieren wieder eine erhebliche Verminderung erfährt, während eine starke trypanozide Wirkung erhalten bleibt. Es sei unter den zahlreichen, hierher gehörigen Verbindungen als besonders wichtig das Arsenophenylglyzin (Formel IV) hervorgehoben[24]).




Dem hierher gehörigen Salvarsan wird an anderer Stelle eine ausführliche Würdigung zuteil.

Bei allen bisher angeführten Untersuchungen steht im Vordergrund die Behandlung einer Allgemeininfektion durch Einführung chemotherapeutischer Agentien in den Kreislauf. Daß die chemotherapeutische Forschung auch einer spezifischen Lokalbehandlung die Wege ebnet, ist beinahe selbstverständlich; entsprechende Herabsatzung der Organotropie bei ausgeprägter Parasitotropie bildet auch hier die Grundbedingung der Wirkung.

Die Einführung des Neosalvarsans, dessen Lösungen neutral reagieren und so lokale Anwendung ohne erhebliche Reizwirkung gestatten, ermöglichte es Ehrlichs Mitarbeiter Castelli[24a]), in dieser Richtung interessante Versuche durchzuführen.

Castelli stellte zunächst am Kaninchenauge fest, daß zahlreiche und häufige Einträufelungen von Neosalvarsan (bis 2,5%ige Lösungen) in den Konjunktivalsack des Kaninchens keine Reizerscheinungen hervorrufen, und daß durch diese Art der Anwendung eine nach Allgemeininfektion mit Syphilis- und Framboesiespirochäten aufgetretene Keratitis geheilt werden kann. Es wird sogar bei dieser Anwendung genug von dem Heilmittel resorbiert, um auch die Allgemeininfektion zu beeinflussen.

In Übereinstimmung mit den Beobachtungen Wechselmanns beim

---

[24]) Vgl. Roehl, Zeitschr. f. Immunitätsf., **I**, 633, **1909** [*527*].

[24a]) Deutsche med. Wochenschr., H. 32, **1912** [*328*]. — Ebenda H. 35, **1912** [*329*]. — Zeitschr. f. Chemotherapie etc. Orig.-Bd. **I**, 321, **1912** [*333*].

Menschen zeigte Castelli weiterhin, daß das Neosalvarsan auch in den Lumbalsack des Kaninchens ohne Nachteil eingeführt werden kann, so daß es auch zur Lokalbehandlung der Meningen geeignet erscheint.

Die starke Verminderung der Giftigkeit bei den Verbindungen vom Typus des Arsenobenzols im Tierversuch zeigen Versuche, die hier nur kurz angeführt seien.

In einer besonderen Versuchsreihe stellte Doinikow[24b]) die geringe Giftigkeit des Salvarsans bei Kaninchen fest. Bei gesunden Kaninchen konnten auch nach lange fortgesetzter Einverleibung von Salvarsandosen, welche das Vielfache der therapeutisch verwendeten Dosen darstellen, keine Veränderungen am Nervensystem nachgewiesen werden.

Andreew[24c]) untersuchte die anatomisch-pathologischen und funktionellen Veränderungen, besonders der Niere, welche bei Versuchstieren nach Behandlung mit verschiedenen chemotherapeutisch wirksamen Arsenverbindungen, mit einer Akridiniumverbindung und mit Sublimat eintreten.

Einige andere Typen organischer Arsenverbindungen wurden noch besonders untersucht. Die völlige Wirkungslosigkeit der Kakodylsäure $\left(\begin{matrix}CH_3\\CH_3\end{matrix}\right)As\begin{matrix}=O\\-OH\end{matrix}$ und des Arrhenal $\left(CH_3-As\begin{matrix}=O\\-ONa\\-ONa\end{matrix}\right)$ bei experimentellen Trypanosomeninfektionen und Spirillosen wurde von Castelli[24d]) in ausführlichen Untersuchungen dargetan.

Die Entdeckung der Arzneifestigkeit[25])[26]) der Trypanosomen und die durchdringende Erforschung dieses von allgemein biologischen wie von praktischen Gesichtspunkten aus gleich wichtigen Gebietes hing mit den hier nur in Kürze wiedergegebenen, an anderer Stelle (E. 2 und 3) ausführlich dargestellten chemischen Fortschritten auf das engste zusammen. Nicht unwesentlich war es hierfür, daß inzwischen auch von Plimmer und seinen Mitarbeitern die energische trypanozide Wirkung von Antimonverbindungene bekannt geworden war, unter denen der Brechweinstein eine hervorragende Stellung einnimmt.

[24b]) Münch. med. Wochenschr., H. 15, **1913** [*338*].
[24c]) Virch. Arch. **CCV**, 263, **1911** [*218*].
[24d]) Arch. f. Schiffs- u. Tropenhygiene. **XVI**, 605, **1912** [*330*].
[25]) Vgl. Browning, British medical Journal 16. Nov. (559), **1907** [*324*].
[26]) Vgl. besonders Browning, Journ. of Pathology and Bacteriology, **XII**, 166, **1908** [*325*].

Die Kenntnis der geschilderten Ergebnisse der chemotherapeutischen Studien Ehrlichs und seiner Mitarbeiter bei Trypanosomeninfektionen bildet die Voraussetzung zum Verständnis der neuen biologischen Erscheinungen, die im Verlauf dieser Untersuchungen von Ehrlich entdeckt und unter dem Namen der Arzneifestigkeit zusammengefaßt wurden.

Bei der Behandlung trypanosomeninfizierter Mäuse mit chemotherapeutischen Agentien zeigte sich bald eine auffallende Erscheinung. Wenn einige Zeit, nachdem das Blut der Mäuse frei von Trypanosomen geworden war, ein Rezidiv eintrat, so war es zunächst möglich, durch die gleiche Dosis desselben Mittels die Trypanosomen von neuem zum Verschwinden zu bringen. Auch beim zweiten Rezidiv gelang dies, beim dritten Rezidiv trat vielleicht nur eine geringe, ganz vorübergehende Verminderung der Zahl der Trypanosomen ein, und es bedurfte einer erhöhten Dosis, um einen vorübergehenden Erfolg zu erzielen. Verimpfte man nun die Trypanosomen auf ein neues Versuchstier, so zeigten sie sich deutlich schwerer beeinflußbar. Nach weiterer Behandlung wuchs die Resistenz immer mehr, die Dosis mußte immer höher gesteigert werden, und nach einer Anzahl Wochen, wenn die systematische Steigerung der Dosis durchgeführt war, erwiesen sich die Trypanosomen auch durch die größten Mengen des chemotherapeutischen Agens, die überhaupt angewandt werden konnten, nicht mehr beeinflußbar.

Es gelang also in relativ kurzer Zeit einen Zustand der „Arzneifestigkeit" bei den Trypanosomen zu erzielen.

Die nächste Frage war nun die, ob es sich hier um eine dauernde Veränderung der Parasiten handle, ob dieselbe durch eine Anzahl von Tierpassagen, deren jede einzelne eine große Menge von Trypanosomengenerationen repräsentiert, erhalten bleibe. Die jahrelange Weiterführung dieser Versuche in Ehrlichs Laboratorium lehrte, daß die Arzneifestigkeit durch Hunderte von Tierpassagen hindurch erhalten bleibt; es kann also hier durch systematisches Vorgehen eine dauernde, vererbbare Veränderung der Trypanosomen erzielt, es kann dem Artcharakter eine neue, persistente Eigenschaft aufgeprägt werden.

Das rein biologische Interesse der Vorgänge ist ein gewaltiges, und das Studium dieser Arzneifestigkeit dürfte dauernd eine der wichtigsten Aufgaben der experimentellen Biologie bleiben.

Für alle praktisch-therapeutischen Bestrebungen auf dem Gebiete der Chemotherapie bildet natürlich die Entdeckung der Arzneifestigkeit einen Wendepunkt; hier verlangt ein neues Moment

von größter Wichtigkeit gebieterisch Beachtung. Man wurde sich bald genug klar, daß z. B. bei der üblichen Behandlung der Schlafkrankheit mit Atoxyl die frühzeitig entstehende Festigkeit der Parasiten einem endgültigen Erfolg ein Ziel setzt; die Erfahrung hat gelehrt, daß hier mit dem Einsetzen der Rezidive auch eine für die weitere Therapie verhängnisvolle Festigkeit der Parasiten eintreten kann.

Die volle Erkenntnis der Bedeutung, welche der Arzneifestigkeit zukommt, war für Ehrlich der Anlaß, die Therapia sterilisans magna als das Ideal chemotherapeutischer Bestrebungen zu proklamieren. Diese Therapia sterilisans magna wird dann erreicht, wenn es gelingt, mit einem Schlag, durch einmalige Behandlung sämtliche Parasiten, sowohl im Blut wie in den Geweben, abzutöten. Es ist klar, daß nur dieser Effekt, welcher von vornherein jede Rezidiventstehung ausschließt, auch die absolute Sicherung gegen das Eintreten einer Festigkeit gewährt.

Eine derartige Sterilisatio magna liegt, wie Ehrlich schon bei seinen ersten Versuchen mit Trypanrot bei Mal de Caderas erkannt hatte, im Bereich der Möglichkeit. Zum ersten Male gelang die vollständige Sterilisation bei einer voll entwickelten Infektion Ehrlich selbst, als mit Nagana infizierte Versuchsmäuse durch eine einmalige Injektion von Arsacetin noch 12 bis 24 Stunden vor dem Tode der unbehandelten Kontrolltiere dauernd geheilt wurden.

Später zeigte sich, daß dieses Resultat durch eine Anzahl chemotherapeutischer Agentien mit Sicherheit erzielt werden kann. Es ist auch kein Zweifel, daß bei allen Infektionen, bei welchen die Rezidivbildung eine Rolle spielt, also vornehmlich bei Protozoen- und Spironeminfektionen, dieses Ziel der Sterilisatio magna zu erstreben ist.

Die Kenntnis der im vorausgehenden behandelten drei Gruppen trypanozider Agentien, der Benzidinfarbstoffe, der Triphenylmethanfarbstoffe, der Arsen- und Antimonverbindungen ermöglichte nun Ehrlich die Vertiefung seiner Festigkeitsstudien.

Zunächst stellte sich die Frage ein, ob und in wieweit diese eigenartige Veränderung der Trypanosomen eine spezifische sei. Hier ergab sich zunächst, daß eine weitgehende Spezifität besteht, und daß die Festigungsreaktion der Trypanosomen vom chemischen Gesichtspunkt aus als eine Reaktion auf bestimmte Gruppen chemischer Verbindungen aufgefaßt werden muß.

Festigte z. B. Ehrlich einen Trypanosomenstamm gegen Arsacetin, so fand er, daß keinerlei Festigkeit gegenüber trypanoziden Substanzen aus den beiden Farbstoffklassen eingetreten war. Wurde umgekehrt eine Festigung gegen Trypanrot erzielt, so trat keine Veränderung in

der Reaktion der Parasiten auf Arsenverbindungen und Triphenylmethanfarbstoffe ein. Ebenso zeigte die Festigkeit gegen Triphenylmethanfarbstoffe im Verhältnis zu den beiden anderen Klassen ihren streng spezifischen Charakter.

Hiermit war als wichtiges Ergebnis festgestellt, daß eine ungeahnt vielseitige Variabilität der Trypanosomen vorliegt, und es erschien wahrscheinlich — was sich auch weiterhin bestätigte —, daß damit die Möglichkeiten noch lange nicht erschöpft sind, sondern daß im Prinzip jeder neuen Klasse trypanozider Substanzen auch eine eigenartige, die Festigkeit bedingende spezifische Veränderung der Trypanosomen entspricht.

Die scharfe biologische Trennung verschiedener Klassen chemischer Substanzen, die sich durch die Festigung ergibt, erfährt nach unserer bisherigen Kenntnis eine, von Ehrlich aufgefundene, eigenartige Ausnahme, die später noch zu besprechen ist. Im Prinzip ist die Spezifität so ausgeprägt, daß Ehrlich mit Recht behauptet, man könne auf Grund der Festigkeitsreaktion eine in ihrer chemischen Zusammensetzung und Konstitution unbekannte Substanz durch das Verhalten gefestigter Trypanosomen in eine bestimmte Klasse einreihen. So zwar, daß eine Reihe spezifisch gefestigter Trypanosomenstämme als eine Art „cribrum therapeuticum", als ein „therapeutisches Sieb" zu benutzen sei.

Bei der weitgehenden Unabhängigkeit der gegen verschiedene Gruppen chemotherapeutischer Agentien gerichteten Festigkeit ist es nicht erstaunlich, daß es auch gelingt, einen und denselben Trypanosomenstamm nach verschiedenen Richtungen hin zu festigen. So konnte Ehrlich, gemeinsam mit Browning (l. c. [26]), seinen Naganastamm der Reihe nach gegen Atoxyl, Trypanrot und Fuchsin festigen. Es ist klar, daß eine in ihrer Konstitution unbekannte Substanz, welche einen derartigen Stamm in derselben Weise wie einen Normalstamm beeinflußt, sich schon dadurch als zu einer neuen Gruppe gehörig charakterisiert.

Besonders komplizierte Verhältnisse boten die Festigkeitserscheinungen, welche sich auf Arsen- und Antimonverbindungen beziehen. Es bedurfte großer experimenteller Kunst, um auf diesem verwickelten Gebiet einigermaßen Klarheit zu schaffen, auf der anderen Seite boten sich aber gerade hier die ersten Angriffspunkte für eine erfolgreiche theoretische Betrachtung des Festigkeitsproblems.

Wie schon oben erwähnt, ist es leicht, durch Behandlung mit Arsacetin einen Trypanosomenstamm gegen diese Verbindung weitgehend zu festigen. Als nun Ehrlich das Verhalten eines derartigen Stammes, welchen er aus seinem Naganastamm „Ferox" gezüchtet hatte (Arsenstamm I) gegenüber verschiedenen Arsen- und Antimonverbindungen untersuchte,

fand er, daß diese Festigkeit auf Verbindungen vom Typus der Arsanilsäure beschränkt blieb, während gegenüber dem besonders wirksamen Arsenophenylglyzin eine Festigkeit überhaupt nicht ausgebildet war. Eine weitere Behandlung des Stammes mit dieser letzteren Verbindung ließ dann leicht auch hier die gewünschte Festigkeit entstehen (Arsenstamm II), aber auch dieser Stamm wurde in demselben Maße wie der Ausgangsstamm durch Brechweinstein und arsenige Säure beeinflußt. Erst als nun eine Behandlung mit arseniger Säure einsetzte, entstand auch eine hochgradige Festigkeit gegenüber dem Brechweinstein, ohne daß eine Festigkeit der arsenigen Säure gegenüber eintrat (Arsenstamm III). Diese letztere Veränderung ist offenbar außerordentlich schwer zu erzielen, denn es gelang erst viel später Gonder[27]), einem Mitarbeiter Ehrlichs, einen derartigen, gegen verschiedene Arsenikalien gefestigten Trypanosomenstamm durch jahrelange Behandlung (Fütterung) mit arseniger Säure auch noch gegen diese zu festigen.

Die angeführten Festigungsversuche Ehrlichs ergaben das wichtige Resultat, daß man nicht von einer Arsenfestigkeit als einer einheitlichen biologischen Erscheinung sprechen darf, sondern daß hier verschiedene Stufen der Festigkeit auseinander gehalten werden müssen. Der Weg, auf dem diese jeweils erreicht werden, ist offenbar nicht immer der gleiche; denn Ehrlich selbst erzielte in einem zweiten Falle durch ausschließliche Behandlung seines Normalstammes mit Arsenophenylglyzin nicht nur eine Festigkeit gegenüber dieser Verbindung, sondern zugleich auch Antimonfestigkeit. Endlich entstand bei der Festigung eines anderen Ausgangsstammes (Morgenroth und Halberstaedter) mit Arsacetin zu gleicher Zeit eine maximale Festigkeit gegen Arsacetin und gegen Brechweinstein. Dieselben Autoren beobachteten noch, daß durch die Behandlung mit Arsacetin zugleich eine hochgradige Festigkeit gegen Dioxydiamidoarsenobenzol entsteht, wie dies schon vorher Margulies[28]) aus Ehrlichs Institut mitgeteilt hatte. Der Eintritt der Festigkeit kann unter Umständen sehr rasch erfolgen; so beobachtete schon Ehrlichs Mitarbeiter Browning (l. c. [26]) in zehn Tagen die Ausbildung eines atoxylfesten Stammes.

In neuerer Zeit (1911) macht Ehrlich (l. c. [8], [9]) auf die wichtige Tatsache aufmerksam, daß eine Anzahl von Arsenverbindungen in kürzester Zeit zur Ausbildung fester Trypanosomenstämme führen kann.

Diese rasche Festigung erzielt Ehrlich durch Substanzen, die an und für sich gar nicht durch besonderen Heilwert ausgezeichnet

[27]) Zeitschr. f. Immunitätsforschung, **XV**, 257, **1912** [*355*].
[28]) Deutsche med. Wochenschr., H. 41 S. 1907, **1910**, [*418*].

zu sein brauchen. Es kommen hierbei nach Ehrlichs Ansicht ganz andere Qualitäten in Betracht. Zur Festigung ist unter Umständen nicht ein Verschwinden der Trypanosomen und der Eintritt von Rezidiven notwendig, sondern es genügt die Behandlung mit Grenzdosen, die die Parasiten nicht mehr zum Verschwinden bringen, sondern nur den Krankheitsverlauf um 2 bis 3 Tage verlängern. Als hierzu geeignete Verbindung führt Ehrlich ein Kondensationsprodukt von p-Oxy-m-amido-phenylarsenoxyd und Resorcylaldehyd an. In analoger Weise erfolgt die später zu besprechende Festigung durch Akridinderivate außerordentlich rasch.

Diese neueren Resultate veranlaßten Ehrlich, auch die Arzneifestigkeit unter die künstlich herbeigeführten Mutationen zu rechnen und sie damit nicht mehr prinzipiell von der weiterhin zu erörternden Serumfestigkeit zu trennen.

Diesem Verhalten der Arsenverbindungen, von dem nur die arsenige Säure eine Ausnahme macht, steht die merkwürdige Erscheinung gegenüber, daß es nicht gelingt, durch alleinige Behandlung mit Brechweinstein eine mehr als vorübergehende Festigkeit gegen Antimon oder Arsen zu erzielen (Mesnil und Brimont, Plimmer und Batemann, Heckenroth, Morgenroth und Rosenthal). Auch Ehrlich faßt seine Beobachtungen in dieser Hinsicht dahin zusammen, daß man die allerhöchsten Grade der Festigkeit speziell gegen Antimon (und arsenige Säure) nur erreichen kann auf einem Umwege, indem man von verschiedenen arsenfesten Stämmen ausgeht.

Wenn man dieses Tatsachenmaterial betrachtet, so sieht man ohne weiteres, daß hier äußerst komplizierte Verhältnisse vorliegen. Die verschiedenen Grade der Arsenfestigkeit lassen eine Einteilung zu, welche sich auf das Verhalten der Stämme gegen Arsenophenylglyzin und gegen Brechweinstein gründet. Die Behandlung der Trypanosomen mit Derivaten der Arsanilsäure ist offenbar nach den Erfahrungen von Ehrlich, denen sich auch die Beobachtungen von Morgenroth und Halberstaedter anschließen, zwar imstande, eine maximale Festigkeit gegen Substanzen dieser Reihe zu erzielen, der aber die Erscheinung gegenübersteht, daß gleichzeitig die Empfindlichkeit der Trypanosomen gegen Arsenophenylglyzin ganz oder teilweise erhalten bleibt. Die Festigkeit gegen Brechweinstein kann auf verschiedenem Wege erreicht werden, ist aber offenbar nicht ohne weiteres verbunden mit einer Festigkeit gegenüber Arsenophenylglyzin, wie aus den Erfahrungen von Morgenroth und Halberstaedter hervorgeht.

Ehrlich hat nun mit Erfolg versucht, diesen verwickelten Verhältnissen, wie sie bei der Festigkeit der Trypanosomen und im besonderen bei der Ausbildung der Arsenfestigkeit hervortreten, durch eine Hypothese

gerecht zu werden, welche man kurz als die Theorie der Chemorezeptoren (Chemozeptoren) bezeichnen kann.

Die Verwandtschaft dieser Anschauung mit seiner das Gebiet der Immunitätsvorgänge umfassenden Rezeptorenlehre ist evident. Die Grundanschauung der Chemozeptorentheorie geht von der Notwendigkeit aus, für die verschiedenen Klassen chemotherapeutisch wirksamer Substanzen, von denen wir bereits die Benzidinfarbstoffe, Triphenylmethanfarbstoffe, sowie die Arsen- und Antimonverbindungen kennen gelernt haben, verschiedene Angriffsstellen im Protoplasma der Trypanosomen zu statuieren. Wenn man zunächst von der Ausbildung dieser theoretischen Anschauung im einzelnen absieht, so ist ein derartiges ordnendes Prinzip ganz unvermeidlich, und seine Notwendigkeit ergibt sich aus der oben besprochenen Tatsache, daß die Festigung gegen jede der genannten Klassen trypanozider Agentien ein selbständiger Vorgang ist, eine unabhängige biologische Funktion des Protoplasmas, die kaum anders darzustellen ist, als durch die Verlegung in verschiedene Orte desselben. In weiterer Ausbildung dieser Vorstellung nimmt nun Ehrlich an, daß die Einwirkung der chemotherapeutischen Agentien nur unter der Voraussetzung erfolgt, daß dieselben an diesen bevorzugten Orten des Protoplasmas eine Bindung erfahren; diese Funktion findet ihren Ausdruck in der Bezeichnung dieser Orte als Chemozeptoren. Es liegt offenbar in ganz analoger Weise, wie auf dem Gebiet der Immunitätslehre, ein außerordentlich großer Reichtum an derartigen Rezeptoren vor, der um so größer erscheint, je mehr chemotherapeutisch wirksame Klassen von Verbindungen aufgefunden worden sind.

Es ist nur eine Konsequenz dieser Auffassung, daß das Vorhandensein derartiger Chemozeptoren nicht nur auf das Protoplasma der Parasiten beschränkt ist, sondern daß auch dem Organismus der höheren Tiere, welche die Parasiten beherbergen, entsprechende Chemozeptoren zukommen.

Die Erweiterung der Chemozeptorenhypothese auch auf die Zellen höherer Organismen, in diesem Falle also auf die Zellen der Wirtstiere, bedeutet nichts anderes als eine präzisere Fassung des distributiven Prinzips, welches von Anfang an die Anschauungen Ehrlichs beherrschte. Der Standpunkt, daß die Bindung für jede biologisch aktive Substanz die Voraussetzung der Wirkung ist, bildete schon die Grundlage der Ehrlichschen Theorieen auf dem Gebiete der Immunitätslehre. Nur daß hier eine ganz eigenartige Verteilung der Rollen zwischen Antikörpern und Antigenen stattfand. Die Antigene erscheinen ausschließlich als organotrop, und ihre gesamte Funktion ist abhängig von

ihrer Verankerung an Organrezeptoren. Die Antikörper dagegen, die ihrer ganzen Entstehungsweise nach spezifisch gegen Antigene gerichtet sind, sind frei von jeder Organotropie. Handelt es sich um Antikörper, welche durch Antigene parasitären Ursprungs erzeugt sind, so kommt ihnen ausschließlich eine Parasitotropie, welche zudem ganz spezifisch gerichtet ist, zu. Ehrlich vergleicht derartige Antikörper sehr treffend mit „Zauberkugeln", die unter allen Umständen ein ganz bestimmtes Ziel mit Unfehlbarkeit treffen" (l. c. [3]).

Das Schicksal einer in einen infizierten Organismus eingeführten chemotherapeutisch wirksamen Substanz ist demnach durch weit kompliziertere Bedingungen bestimmt, wie das eines Antikörpers, es ist abhängig von der Verteilung der Chemozeptoren, sowohl im Organ wie im Parasiten. Es ist aber nicht nur diese Topik der Chemozeptoren bestimmend, sondern noch ein weiterer Faktor, der durch das Verhältnis der Affinität der verschiedenen Chemozeptoren definiert wird. Ein chemotherapeutisches Agens, welches ausschließlich parasitotrop wäre, würde, ganz nach Art eines spezifischen Antikörpers, die Parasiten ohne die Möglichkeit einer Schädigung des infizierten Organismus abtöten. Umgekehrt würde eine Substanz, welche außerhalb des Organismus auf Parasiten einwirkt, im chemotherapeutischen Versuch vollständig versagen, wenn bei ihr die Organotropie der Verwandtschaft zu den Parasiten die Wage hielte, wie dies bei dem Verhalten vieler Desinfektionsmittel der Fall zu sein scheint. Je ausgeprägter die Parasitotropie gegenüber der Organotropie ist, desto größer ist die Möglichkeit einer chemotherapeutischen Wirkung.

Einen zahlenmäßigen Ausdruck dieses Verhältnisses zwischen Organotropie und Parasitotropie bildet bis zu einem gewissen Grade, der von Ehrlich (l. c. [13]) aufgestellte therapeutische Koeffizient, welcher durch das Verhältnis der Heildosis zur toxischen Dosis dargestellt wird. Schon die Tatsache, daß dieser Koeffizient für ein und dasselbe chemotherapeutische Agens und den gleichen Parasiten je nach der Art des infizierten Organismus bedeutend schwankt, weist auf seinen intimen Zusammenhang mit dem Verteilungsprinzip hin. Es ist eine der wichtigsten Aufgaben der systematischen chemotherapeutischen Forschung, nach Mitteln zu suchen, bei denen der therapeutische Koeffizient möglichst kleine Werte annimmt; wie an anderer Stelle (F, 3) des Näheren ausgeführt wird, ist auf dem Gebiete der Arsenverbindungen durch die Einführung des Dioxydiamidoarsenobenzols ein Optimum erreicht worden.

Ehrlichs distributives Prinzip bildete die Basis für das Postulat einer rationellen Kombinationstherapie. Der Ausbau einer solchen Kombinationstherapie, welche sich der gleichzeitigen Einwirkung ver-

schiedenartiger chemotherapeutischer Agentien bedient, ist, wie Ehrlich frühzeitig erkannt hat, von besonderer Bedeutung für die Behandlung des Menschen, bei welcher ja unter allen Umständen die Möglichkeit von Schädigungen nach Kräften auszuschalten ist.

Geht man bei der Auswahl der zu kombinierenden Mitteln von dem Chemozeptorenprinzip aus, so ergibt sich klar die von Ehrlich aufgestellte Forderung, daß man Arzneimittel kombinieren muß, welche an verschiedenen Chemozeptoren angreifen. Auf diese Weise wird eine verstärkte Wirkung gegenüber den Parasiten erzielt, während zu gleicher Zeit der Organismus selbst nicht gesteigerter Schädigung unterliegt, da gemäß der Verteilung seiner verschiedenartigen Chemozeptoren über verschiedene Organbezirke eine Summation schädigender Einflüsse ausbleibt.

Die Anwendung der Kombinationstherapie zum Zwecke einer Sterilisatio magna ist auch nach Ehrlichs Anschauung besonders dazu berufen, das Überleben einzelner Parasiten und damit die Ausbildung der Arzneifestigkeit von vornherein zu vermeiden.

Betrachtet man nun die Entstehung einer Arzneifestigkeit der Trypanosomen als Funktion der Chemozeptoren dieser Parasiten, so ist es leicht, den Vorstellungen Ehrlichs zu folgen. Der Entstehung der Arzneifestigkeit entsprechen ganz bestimmte Veränderungen des bindenden Substrates, die ihren Ausdruck finden in einer Verringerung der Affinität zu der chemotherapeutisch wirksamen Substanz, mithin in einem Sinken der Parasitotropie. Nimmt man mit Ehrlich an, daß die Ausbildung der Arzneifestigkeit bedingt ist durch eine fortschreitende Verminderung der spezifischen Affinität der Chemozeptoren, so reiht sich dieser Vorgang organisch in den Gesamtplan seines theoretischen Gebäudes ein. Der höchste Grad von Arzneifestigkeit würde einem vollständigen Schwinden der Affinität oder — anders ausgedrückt — einer absoluten Einziehung der verankernden Chemozeptoren entsprechen.

Ehrlich hat mit Recht darauf hingewiesen, daß eine derartige maximale Arzneifestigkeit durch die übliche Behandlung infizierter Versuchstiere nicht zu erreichen ist. Es kann sich hier immer nur um eine relative Affinitätsverminderung der Chemozeptoren handeln, die in einer Vergrößerung des chemotherapeutischen Koeffizienten ihren Ausdruck findet und, bevor eine maximale Festigkeit eingetreten ist, ihr Ende dann erreicht, wenn der Koeffizient den Wert $^1/_1$ überschreitet. Die bei den Trypanosomen beobachtete Arzneifestigkeit drückt also nach Ehrlichs wohlberechtigten Anschauungen nur eine Veränderung des Verhältnisses von Parasitotropie zu Organotropie und zwar zugunsten der letzteren aus.

Hiermit hängt vielleicht die gelegentliche Beobachtung zusammen, daß der Reagenzglasversuch keinen sicheren Aufschluß über eine entstandene Arzneifestigkeit gibt, und daß Trypanosomen, welche im Tierversuch eine gewisse Festigkeit zeigen, im Reagenzglasversuch sogar überempfindlich erscheinen.

Eine Reihe von Reagenzglasversuchen an festen Trypanosomenstämmen nahm Ehrlichs Mitarbeiter Neven (l. c. [23]) vor. Bezüglich der Methodik dieser Versuche betont Neven, daß der Reagenzglasversuch als solcher nur Aufschluß über gewisse Veränderungen der Trypanosomen gibt, im besonderen über die Verringerung oder Aufhebung der Beweglichkeit oder gewisse leicht wahrnehmbare Schädigungen. Wenn es sich darum handelt, festzustellen, ob die Trypanosomen resp. andere mit Eigenbewegung begabte Mikroorganismen durch die Einwirkung chemotherapeutischer Agentien im Reagenzglasversuch ihre Vermehrungsfähigkeit verloren haben, muß sich der Tierversuch natürlich anschließen. Es zeigt sich so die bemerkenswerte Tatsache, daß eine weitgehende Unabhängigkeit zwischen der motorischen Funktion und der Fortpflanzungsfähigkeit der Trypanosomen besteht. Mischte Neven z. B. eine Trypanosomenaufschwemmung mit einer verdünnten Lösung von Parafuchsin, so blieb die Beweglichkeit der Trypanosomen vollständig erhalten. Injizierte er aber eine derartige Mischung Mäusen, so unterblieb die Infektion, es erwiesen sich also die Trypanosomen trotz der Erhaltung der Beweglichkeit als schwer geschädigt.

Analoge Beobachtungen machte später Ehrlichs Mitarbeiter Hata an Spirochäten, deren Beweglichkeit durch ein so exquisit wirksames Agens wie Neosalvarsan auch nach stundenlanger Einwirkung nicht beeinträchtigt wird. Hieraus etwa zu schließen, daß die Spirochäten unbeeinflußt bleiben, wäre durchaus verfehlt. Zentrifugiert man derartige, anscheinend normale, Spirochäten — z. B. Rekurrensspirillen — von der Salvarsanlösung ab, entfernt die letzten Reste des Salvarsans durch erneutes Aufschwemmen der Parasiten in einem indifferenten Lösungsmittel und nachheriges Zentrifugieren und injiziert dieselben dann empfindlichen Versuchstieren — Mäusen —, so bleibt im Gegensatz zu entsprechenden Kontrollversuchen die Infektion aus.

Dies beweist, daß das Salvarsan von den Spirillen gebunden wurde und auch zu deren Schädigung geführt hat. Der einfache Versuch beweist nach Ehrlichs Anschauung die direkte Wirkung und die Fixation des chemotherapeutischen Agens.

Bei den direkt auf Trypanosomen wirkenden Arsen- und Antimonverbindungen konnte Neven schon im Reagenzglasversuch einen markanten Unterschied zwischen normalen und festen Trypanosomen-

stämmen erkennen, wie dies schon vorher Mesnil und Brimont für antimonfeste Stämme gezeigt hatten. Reagenzglasversuche mit arseniger Säure ergaben in Übereinstimmung mit den Tierversuchen keinen Unterschied im Verhalten des Ausgangsstammes und der arsenfesten Stämme.

Bezüglich der Technik des durch Nevens Versuche und kritische Diskussion derselben in seiner Bedeutung klargestellten Reagensglasversuches sei bemerkt, daß späterhin Terry[28a]) in Ehrlichs Laboratorium verdünntes Blutserum als Suspensionsmittel an Stelle der Kochsalzlösung einführte. Die Beweglichkeit der zur Kontrolle benutzten Parasiten ist in Serum energischer und dauert erheblich länger an als in Kochsalzlösung, wie bereits bekannt und besonders von Schern angegeben worden war; die immobilisierende Wirkung trypanozider Substanzen erfolgt dagegen nicht selten rascher.

Als geeignet erwies sich das Serum verschiedener Tierarten (Kaninchen, Rind, Pferd, Ziege, Hammel, Schwein, Huhn, Ratte, Maus); das Serum kann zur Erzielung von Keimfreiheit filtriert und viele Monate aseptisch im Eisschrank aufbewahrt werden.

Nachdem wir bis jetzt die Arzneifestigkeit als eine Erscheinung von weitgehender Spezifität kennen gelernt haben, muß auf eine Reihe eigenartiger Erscheinungen eingegangen werden, die Ehrlich mit seinen Mitarbeitern Neven (l. c. [13]), Kudicke[29])[30]), Gonder (l. c. [27]) und andere erforscht hat. Es zeigt sich hier, daß der Begriff der Spezifität in bestimmter Weise erweitert werden muß.

Es bestehen nämlich Wechselbeziehungen zwischen den Arsenverbindungen auf der einen Seite und einer Reihe von Farbstoffklassen auf der anderen Seite. Arsenfeste Stämme zeigten zwar, wie schon früher erwähnt, normales Verhalten gegenüber Benzidinfarbstoffen und Triphenylmethanfarbstoffen, dagegen bewiesen sie sich überraschenderweise fest gegenüber einer Anzahl von Pyroninen, Acridinfarbstoffen, Oxazinen, Thiazinen und Selenazinen. Das gemeinsame Moment, welches diese Farbstoffe verbindet, ist, was Ehrlich bald erkannte, die orthochinoide Bindung, wie sie in der unten mitgeteilten Formel eines Repräsentanten dieser Klasse zum Ausdruck kommt.

Es ergibt sich aus dieser interessanten Tatsachenreihe der Schluß, daß der Arsenozeptor der Trypanosomen zugleich die Fähig-

---

[28a]) Proceed. of the Soc. for exp. Biol. and Med. **IX**, 40, **1911** [*598*].
[29]) Zentr. f. Bakt., **LIX**, 182, **1911** [*393*].
[30]) Centralbl. f. Bakt., I. Abt. Orig., **LXI**, 113, **1911** *394*].

keit besitzt, eine große Reihe „orthochinoider" Substanzen zu binden.

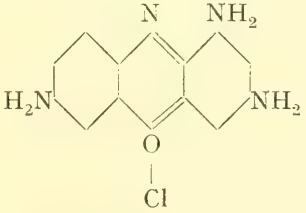
Gelegentlich der Untersuchung über die Einwirkung von Farbstoffen des orthochinoiden Typus auf Trypanosomen wurde von Werbitzki[31]) in Ehrlichs Laboratorium eine sehr eigenartige Erscheinung festgestellt.

Bei systematischer Behandlung mit Substanzen dieser Gruppe erhält man schließlich einen Stamm, der vollständig blepharoplastfrei ist; diese Eigenschaft bleibt auch nach zahlreichen Passagen durch unbehandelte Tiere erhalten. Trotz des Verlustes des Blepharoplasten erleidet die motorische Funktion und die Vermehrung der Trypanosomen keine Störung*).

Nach neueren von Gonder (l. c. [27]) in Ehrlichs Laboratorium ausgeführten Versuchen kann bei Trypanosomen, welche in Anschluß an systematische Vorbehandlung mit Arsenikalien gegen Farbstoffe vom orthochinoiden Typus fest sind, die Verminderung der Avidität der Rezeptoren — die „Einziehung der Rezeptoren" — durch das färberische Verhalten der Trypanosomen unmittelbar zur Anschauung gebracht werden.

Am geeignetsten zur Ausführung dieser Versuche erwiesen sich zwei orthochinoide Farbstoffe, nämlich das Triaminophenazoxoniumchlorid (s. Formel I) und die entsprechende Verbindung aus der Selenazinreihe, das Triaminophenazoseleniumchlorid, das von Dr. Bauer in der chemischen Abteilung des Georg Speyer-Hauses dargestellt wurde. Beide Farbstoffe sind tief violett und besitzen im Tierversuch die erwähnte, für die orthochinoiden Farbstoffe charakteristische Eigenschaft, die Trypanosomen in blepharoplastfreie Formen überzuführen.

I.




Setzte Gonder nun einer Aufschwemmung trypanosomenhaltigen Blutes Lösungen dieser Farbstoffe von verschiedener Konzentration zu, so zeigte sich, daß ein normaler Trypanosomenstamm außerordentlich rasch alteriert wurde. Schon nach halbstündiger Einwirkung des Oxazins

*) Über diese äußerst interessanten Veränderungen wird an anderer Stelle (s. Gonder, B. 7) ausführlich berichtet.

31) Centralbl. f. Bakt., I. Abt. Orig., **LIII**, 303, **1910** [*604*].

immobilisierten Konzentrationen von 1 : 15000 die Trypanosomen; vor allem aber zeigte sich nach dieser Zeit auch noch bei einer Verdünnung von 1 : 75000 eine schwache rötliche Färbung des Protoplasma, die an Intensität zunahm. Die Farblösung dringt schon während des Lebens in den Zellkörper ein und färbt den ganzen Flagellatenleib intensiv rot bis rotviolett. Späterhin tritt in Zusammenhang mit der Deformation der Trypanosomen allmählich wieder eine Entfärbung ein.

Ganz anders verhielten sich nun Trypanosomenstämme, die durch Behandlung mit Arsenverbindungen einen höheren oder geringeren Grad von Arsenfestigkeit und damit auch eine Festigkeit gegen orthochinoide Farbstoffe erlangt hatten. Die verwendeten arsenfesten Stämme bieten an sich schon ein besonderes biologisches Interesse. Stamm I war durch Arsacetin und Atoxyl gefestigt, wurde jedoch im Tierkörper noch durch Arsenophenylglyzin beeinflußt; Stamm II war auch fest gegen Arsenophenylglyzin, wurde aber noch durch Parafuchsin, Brechweinstein und gewisse Farbstoffe beeinflußt. Stamm III war gegen alle genannten Chemikalien gefestigt, nicht aber gegen arsenige Säure, und Stamm IV endlich war durch jahrelange Behandlung — ein bis dahin vergeblich erstrebtes Ziel — auch gegen arsenige Säure fest geworden.

Entsprechend dem Zusammenhang zwischen Arsenfestigkeit und Festigkeit gegenüber orthochinoiden Farbstoffen wuchs die Resistenz der einzelnen Stämme gegen die beiden Farbstoffe mit dem Grad der Arsenfestigkeit. Im Gegensatz zum Verhalten des Normalstammes drang aber vor allem der Farbstoff, so lange die Trypanosomen lebend und beweglich waren, überhaupt nicht in die Zellen ein. Erst nach dem Tode der Trypanosomen vermochte der Farbstoff in die Zellleiber einzudringen und allmählich die rotviolette Färbung hervorzubringen.

Die prinzipielle Differenz zwischen dem normalen und dem arsenfesten Stamm ist also dahin zu präzisieren, daß die normalen Trypanosomen sich sehr schnell vital färben und dann auch bald absterben, während bei den arsenfesten Stämmen die vitale Färbung überhaupt ausbleibt und ein Absterben erst nach viel längerer Zeit erfolgt.

Auf dem Boden der Chemozeptorenlehre finden auch die komplizierten Erscheinungen eine Erklärung, die man bei der Festigung gegen Arsen- und Antimonverbindungen beobachtet. Man braucht hier nur mit Ehrlich anzunehmen, daß die Heilsubstanzen nicht nur von einem einzigen Chemozeptor gefesselt werden, sondern daß mehrere verschiedene Chemozeptoren in Aktion

treten. So wird nach Ehrlichs Vorstellung das Arsenophenylglyzin primär durch einen Aceticozeptor und gleichzeitig durch den Arsenozeptor im Protoplasma verankert, während beim Salvarsan neben dem Arsenozeptor noch ein Orthoamidophenolozeptor in Aktion tritt. Aus dieser Vorstellung heraus ist es begreiflich, daß eine allgemeine Arsenfestigkeit, welche einer starken Affinitätsverminderung des Arsenozeptors entspricht, einhergehen kann mit einer relativen Empfindlichkeit, z. B. gegen Arsenophenylglyzin, die dadurch bedingt wird, daß der erhalten gebliebene Aceticozeptor die Haftung an dem Rest des Arsenozeptors noch ermöglicht.

Was das Zustandekommen der Arzneifestigkeit betrifft, so hatte es zunächst den Anschein, als ob hierzu generell eine ziemlich langdauernde Behandlung der Trypanosomen notwendig sei, wenn auch schon z. B. die früher erwähnte Beobachtung von Browning darauf hinwies, daß eine Arzneifestigkeit gelegentlich auch sehr rasch zur Ausbildung kommen kann. Später erkannte Ehrlich, daß es möglich ist, sowohl mit Hilfe gewisser organischer Arsenverbindungen — hierzu erwies sich eine Reihe von Derivaten der Phenylarsinsäure als besonders geeignet — wie auch besonders durch die Farbstoffe von orthochinoidem Typus in ganz rascher Weise die Entstehung fester Stämme hervorzurufen. So gelang es z. B. Ehrlichs Mitarbeiter Kudicke (l. c. 29, 30) durch eine einmalige Behandlung mit dem als Trypaflavin bezeichneten Acridiniumfarbstoff, einen relativ arsenfesten Trypanosomenstamm zu erzeugen.

Es dürften also hier neben langsam verlaufenden Vorgängen auch noch ganz rasch stattfindende Veränderungen des Protoplasmas der Trypanosomen in Frage kommen, die durchaus den Charakter mutativer Veränderungen tragen. Es besteht also zwischen den Vorgängen bei der Entstehung der Arzneifestigkeit und der später zu besprechenden Serumfestigkeit nicht der prinzipielle Unterschied, den Ehrlich früher annehmen zu müssen glaubte.

Die eminente praktische Bedeutung der Arzneifestigkeit zwang vor allem zu einer Frage von hoher Wichtigkeit, die aber zugleich dem Experiment erhebliche Schwierigkeiten entgegenstellte, Stellung zu nehmen.

Die Übertragung der im Laboratorium gegen Arzneimittel gefestigten Trypanosomen von Tier zu Tier erfolgt natürlich auf dem Wege der Impfung, so daß ausschließlich vegetative Formen in Frage kommen, Verhältnisse, wie sie bei der natürlichen Übertragung der Trypanosomen und der Protozoen überhaupt, die durch Insekten stattfindet, niemals vorliegen. Hier schiebt sich bekanntlich zwischen die vegetativen Formen, wie sie sich im Körper der höheren Tiere entwickeln, ein besonderer Zyklus ein, welcher die Geschlechtsformen der Protozoen enthält.

Ehrlich hatte schon frühzeitig die Frage aufgeworfen, ob bei den Befruchtungsvorgängen, wie sie hier stattfinden, die Arzneifestigkeit erhalten bleibt, oder ob sie hierbei aufgehoben wird. Für die Entstehung arzneifester Protozoenrassen, welche unter Umständen die Beeinflußbarkeit der Erkrankung in weiten Regionen verändern können, ist die Entscheidung dieser Frage natürlich von ausschlaggebender Bedeutung.

Gonder[32]) gelang es, diese Fragen im Laboratorium ihrer Lösung erheblich näher zu bringen. Er festigte das Trypanosoma Lewisii, welches bekanntlich in der Ratte vorkommt, gegen Arsenophenylglyzin und übertrug dann dasselbe durch die Rattenlaus, Haematopinus spinulosus, auf gesunde Ratten. Selbstverständlich wurde darauf geachtet, daß nicht die in seltenen Fällen mögliche mechanische Übertragung, sondern daß in der Rattenlaus eine Entwicklung der Trypanosomen, welche eine Kopulation in sich schließt, stattfand. Gonder konnte feststellen, daß die Entwicklung resp. die Befruchtung in der Rattenlaus die Arsenfestigkeit zum Verschwinden bringt.

Wenn dieser experimentell festgestellten Tatsache allgemeine Bedeutung für die verschiedenen Protozoenarten zukommt, dann ist wenigstens zu erwarten, daß die Arzneifestigkeit, wie sie bei wiederholt ungenügend behandelten Menschen und Haustieren entsteht, nur für diese selbst, nicht aber für die weiteren infizierten Individuen von Bedeutung ist.

Die leichte Entstehung der Arzneifestigkeit bei Trypanosomen beweist natürlich noch nicht, daß bei anderen Protozoen und bei Mikroorganismen überhaupt Arzneifestigkeit in derselben Weise erzielt werden kann. Bei der praktischen Bedeutung der Chemotherapie der Spirillosen war es von besonderem Interesse, festzustellen, ob auch bei den Spirillen die Entstehung einer Arzneifestigkeit in Frage kommt und im besonderen, ob eine Festigung gegen Salvarsan stattfindet.

Im Gegensatz zu Rothermundt und Dale, welche in Versuchen mit Atoxyl bei Hühnerspironemen die Entstehung einer Arsenfestigkeit ausbleiben sahen, konnte Gonder[33]) nachweisen, daß auch bei den Spironemen eine Arzneifestigkeit erreicht werden kann. Es gelang ihm durch ganz allmähliche Gewöhnung eine Festigung der Recurrensspironemen gegen Salvarsan zu erzielen. Dasselbe erreichte er schließlich auch bei Hühnerspironemen. Gonder betont mit Recht, daß diese mühevoll aufgezwungene Festigkeit der Spironemen gegen Salvarsan in keiner Weise irgendwelche praktische Bedeutung besitzt.

---

[32]) Zentralbl. f. Bakt., **LXI**, 102, **1911** [*353*].
[33]) Zentralbl. f. Bakt., **LXII**, 168, **1912** [*354*].

Selbst zehn- und zwanzigmalige Injektion wird voraussichtlich niemals irgendeine Festigkeit erwirken können. Es dürfte demnach in der chemotherapeutischen Praxis auch die Injektion fraktionierter Dosen nicht zu einer Festigkeit, sondern ohne Schwierigkeit zu einer Beseitigung der Spirillen führen, wie sich dies ja auch in einer unübersehbar großen Reihe von Fällen tatsächlich gezeigt hat.

Wenn auch die theoretisch und praktisch wichtigsten Resultate durch möglichst erschöpfend durchgeführte Studien an Trypanosomen und Spirillen erzielt wurden, so blieben doch andere Gebiete infektiöser Erkrankungen nicht unbearbeitet.

Erwähnt seien Versuche von Marks[34]), welche sich auf die Wirkung des Salvarsan bei experimenteller Vaccineinfektion des Kaninchens beziehen. Es zeigte sich, daß eine gleichzeitig mit der kutan erfolgten Impfung stattfindende Injektion von Salvarsan prophylaktisch wirken kann, daß dagegen 24 Stunden nach der Impfung kein Einfluß mehr ausgeübt wird. Eine Anzahl von sonst chemotherapeutisch wirksamen Farbstoffen erwies sich bei der Vaccine als unwirksam.

Mit der chemotherapeutischen Beeinflussung bakterieller Infektionen, wie sie durch die Versuche von Morgenroth und Levy an Pneumokokken naturgemäß angeregt wurden, beschäftigen sich Arbeiten von Bierbaum[35]) und von Boehncke[36])[37]) in Ehrlichs Institut.

Bierbaum (l. c. [35]) zeigte im Anschluß an Beobachtungen von Becker, Bettmann und Laubenheimer, daß die Milzbrandinfektion des Meerschweinchens durch Salvarsan beeinflußt wird, und stellte weiterhin fest, daß das Gleiche bei der Rotlaufinfektion der Maus der Fall ist. Von besonderem Interesse ist die Tatsache, daß durch Kombination mit spezifischer Serumtherapie eine Erhöhung der günstigen Wirkung stattfindet.

In derselben Richtung bewegen sich Versuche von Boehncke (l. c. [36]) an pneumokokkeninfizierten Mäusen, der als chemotherapeutisches Agens das Äthylhydrocuprein verwendet. Boehncke, der die Ergebnisse von Morgenroth und Levy vollständig bestätigte, fand auch hier im Einklang mit Neufeld und Engwer, daß die chemotherapeutische Wirkung durch gleichzeitige spezifische Serumbehandlung erhöht wird.

In einer zweiten Arbeit stellte Boehncke (l. c. [37]) in Anschluß an

[34]) Münch. med. Wochenschr., H. 50, **1910** [*426*].
[35]) Deutsche med. Wochenschr., H. 43, S. 2012, **1912** [*296*].
[36]) Münch. med. Wochenschr., H. 8, **1913** [*309*].
[37]) Berl. klin. Wochenschr., H. 18, **1913** [*310*].

frühere, kaum zulängliche, Versuche von Welch fest, daß dem Campher bei der Pneumokokkeninfektion der Maus eine chemotherapeutische Wirkung zukommt.

Zur Erzielung einer Arzneifestigkeit bei Bakterien gelangte Marks[38]). Er behandelte einen Stamm von Paratyphusbazillen in Kulturen systematisch mit arseniger Säure und sah allmählich einen mäßigen Grad von Festigkeit entstehen. Bemerkenswert ist hierbei der Umstand, daß durch die Behandlung mit arseniger Säure eine Festigkeit auch gegenüber Antimon erzielt wird, die einen verhältnismäßig höheren Grad erreicht als die Arsenfestigkeit selbst. Auch die Eigenschaften des Stammes gegenüber spezifischen Agglutininen werden verändert.

Später nahm Shiga[39]) in Ehrlichs Laboratorium ähnliche Versuche wieder auf, indem er Choleravibrionen gegen verschiedene Farbstoffe festigte. Eine Festigkeit tritt ziemlich rasch ein, und es zeigt sich, daß die festen Stämme nicht nur gegenüber dem homologen Farbstoffe, der zur Festigung gedient hat, sondern auch gegenüber anderen Farbstoffen mehr oder weniger verändert sind. Immerhin besteht ein erheblicher Grad von Spezifizität. Die gegen Farbstoffe festen Stämme der Choleravibrionen gewannen gegen die Serumwirkung keine Resistenz, vielmehr unterlagen sie zuweilen leichter als der Ausgangsstamm der Serumwirkung. Wie Shiga mit Recht bemerkt, spricht die prägnante Differenz, welche sich zwischen der Festigkeit gegenüber Farbstoff- und Serumwirkungen ergibt, von neuem für die Anschauung Ehrlichs, daß die Chemozeptoren einerseits, die Nutrizeptoren, welche die Antikörperwirkungen vermitteln, andererseits selbständige und von einander gänzlich unabhängige Organe des Zellprotoplasmas darstellen.

---

Ehrlichs chemotherapeutische Studien sollten endlich zur Erkenntnis eines biologischen Phänomens von überraschender Eigenart, das von verschiedenen Gesichtspunkten aus tiefgehendes Interesse beansprucht, zur Erkenntnis der sogenannten Serumfestigkeit der Trypanosomen führen. Die ersten Beobachtungen in dieser Richtung, auf welche schon zu Anfang unserer Darstellung hingewiesen wurde, machte Ehrlichs Mitarbeiter Franke (l. c. [16], [17]). Es fanden sich im Serum eines Affen, der nach vorübergehender Heilung von einer Trypanosomeninfektion an einem Rezidiv erkrankt war, zu gleicher Zeit Trypanosomen und Antikörper.

Nachdem Ehrlich, Shiga und Franke (l. c. [14], [16], [17]) auch bei

[38]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **VI**, 293, **1910** [*425*].
[39]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **XVIII**, 65, **1913** [*585*].

Mäusen, die durch Trypanrot von einer Infektion mit Mal de Caderas geheilt waren, das Auftreten einer echten, anscheinend zeitlich begrenzten Immunität gefunden hatten, gingen sie dazu über, die Spezifität dieser Immunität zu prüfen. Es wurden z. B. Mäuse mit Naganatrypanosomen infiziert, geheilt und dann mit einer anderen Trypanosomenart, z. B. Mal de Caderas oder Dourine nachgeimpft, in der Erwartung, durch diese Immunitätsreaktion gleiche Trypanosomenspezies zu indentifizieren, resp. verschiedene von einander zu trennen.

Diese Hoffnung erwies sich als nicht ganz berechtigt durch Versuche, welche in der Folge Browning (l. c. [25], [26]) in Ehrlichs Laboratorium ausführte. Er impfte eine Anzahl Mäuse mit einem Naganastamm, welcher gegen Parafuchsin gefestigt war und nahm nach einer Heilung der Infektion eine Nachinfektion vor, indem er einen Teil der Mäuse mit demselben parafuchsinfesten Stamm, andere wieder mit einem atoxylfesten Naganastamm und endlich andere Mäuse mit einem Normalnaganastamm infizierte. Es zeigte sich, daß nur gegen den vorgeimpften, also parafuchsinfesten Stamm eine Immunität eingetreten war, während sich bei den beiden anderen Stämmen die nachinfizierten Trypanosomen ohne Hemmung vermehrten. Browning kam deshalb zu dem Schluß, daß die Immunitätsreaktion bereits feinste biologische Unterschiede der Trypanosomen erkennen lasse, und daß deshalb Differenzen in dieser Reaktion keine genügende Grundlage für die Trennung verschiedener Trypanosomenspezies bieten.

Ehrlichs Untersuchungen zeigten nun weiterhin, daß Trypanosomen, welche nach Heilung einer ersten Infektion ein Rezidiv verursachen, sich in ihrer Immunitätsreaktion von den ursprünglichen Trypanosomen unterscheiden.

Mit einem derartigen „Rezidivstamm" hatte es offenbar auch Franke zu tun, und die weiteren Studien zeigten, daß hier eine bis dahin nicht bekannte Fähigkeit dieser Mikroorganismen vorliegt, sich den im Serum vorhandenen Antikörpern anzupassen. Die Parasiten des Rezidivstammes erfahren eine biologische Veränderung; sie werden serumfest.

Infiziert man nach vollständiger, dauernder Heilung Mäuse von neuem mit demselben Trypanosomenstamm, so haben, falls die Infektion angeht, die zur Entwicklung gelangenden Trypanosomen gleichfalls die Eigenschaft eines Rezidivstammes und erweisen sich immunisatorisch als vollkommen verschieden von dem Ausgangsstamm.

Diese neuerworbene Eigenschaft bleibt, ähnlich wie die

Arzneifestigkeit, durch viele Monate hindurch bestehen und bei der weiteren Passage durch normale Versuchstiere unverändert.

Ihr Eintreten erfolgt auch, und zwar außerordentlich schnell, wenn man in vitro antikörperhaltiges Serum auf die Trypanosomen einwirken läßt. Dieser rasche Umschlag biologischer Eigenschaften wurde von Ehrlich von Anfang an als Mutationsvorgang aufgefaßt.

Die theoretischen Vorstellungen, welche sich Ehrlich von dem Zustandekommen dieser Serumfestigkeit bildete, schließen sich aufs engste an seine an anderer Stelle dargestellte Immunitätstheorie an. Die Voraussetzung ist die, daß die spezifische Antikörperwirkung auf Trypanosomen entsprechend einer allgemein geltenden Gesetzmäßigkeit durch Rezeptoren ihres Protoplasmas bewirkt wird, welche die Fähigkeit besitzen, die Antikörper des Serums zu verankern. Die physiologische Funktion dieser Rezeptoren ist entsprechend den allgemeinen Prinzipien der Ehrlichschen Theorie eine ernährungsphysiologische; sie sind bestimmt, die Nahrungsstoffe der Trypanosomen aufzunehmen, und werden deshalb von Ehrlich (im Gegensatz zu den Chemozeptoren) als Nutrizeptoren bezeichnet.

In dem ursprünglichen Trypanosomenstamm ist nun nach Ehrlichs Auffassung eine bestimmte einheitliche Art von Nutrizeptoren reichlich vorhanden. Diese fungieren bei einer durch chemotherapeutische Mittel bewirkten Schädigung der Trypanosomen als Antigen und erzeugen einen spezifischen Antikörper, der in vivo und in vitro von den Trypanosomen gebunden wird.

Unter dem Einfluß dieser Bindung tritt der Übergang zum Rezidivstamm ein in der Weise, daß mit einem Schlage diese Rezeptoren verschwinden und eine neue Rezeptorenart auftritt (vgl. hierzu auch Ehrlich, Röhl und Gulbransen[40]).

Daß in dem Rezidivstamm der ursprüngliche Rezeptor verschwunden und ein neuartiger aufgetreten ist, ergibt sich daraus, daß nach Vorimpfung mit dem Rezidivstamm die Infektion mit dem Ausgangsstamm keine Hemmung erleidet. Das Wesen der Rezidivstammbildung besteht also darin, daß einerseits der vorhandene Rezeptor schwindet, andererseits eine neue Rezeptorenart auftritt. Die Wirkung der trypanoziden Antikörper beruht nach den Anschauungen Ehrlichs nicht auf einer unmittelbaren Schädigung der Trypanosomen, wie dies durch Vermittlung einer toxophoren oder trypanolytischen Gruppe stattfinden könnte, sondern auf einer Störung der Ernährung durch Besetzung des entsprechenden Rezeptors. Ist der Parasit in der Lage, rasch eine

[40]) Zeitschr. f. Immunitätsf. **III**, 296, **1909** [*201*].

neue Gruppierung zu schaffen, so entzieht er sich diesem Schicksal und ist imstande — als Rezidivstamm — weiter zu existieren.

Diese neuartige Auffassung Ehrlichs wird nicht beeinträchtigt, sondern sie erhält viel eher eine Stütze, durch die Untersuchungen, welche Rosenthal in meinem und Minkowskis Laboratorium über die Genese der Rezidivstämme angestellt hat. Rosenthals Ergebnisse machen es in hohem Grade wahrscheinlich, daß die Antikörper, welche die Rezidivstammbildung veranlassen — er bezeichnet sie als Rezidivkörper —, von den eigentlichen trypanoziden Antikörpern des Serums, die möglicherweise als echte Ambozeptoren aufzufassen sind, prinzipiell verschieden sind. Den Rezidivkörpern käme dann als spezifische Funktion die von Ehrlich postulierte neuartige Wirkung zu, die ausschließlich in einer Besetzung der Rezeptoren und der damit verbundenen Ernährungsstörung der Parasiten, die man als eine Art Aushungerung bezeichnen kann, bestünde.

Ein besonderer Wert wird Ehrlichs Theorie der Nutrizeptoren dadurch verliehen, daß sie imstande ist, für die Spontanheilung rezidivierender Protozoenerkrankungen eine ausreichende Erklärung zu geben. Ehrlich setzt dies in besonders anziehender und lichtvoller Weise an dem Beispiel der Rekurrensinfektion des Menschen auseinander. Hier folgt bekanntlich dem ersten Anfall eine beschränkte Anzahl von Rezidiven, welche selten über vier bis höchstens fünf hinausgehen, bevor dauernde Spontanheilung eintritt. Verschwinden die Spirillen nach dem ersten Anfall, so ist dies als die Wirkung eines Antikörpers anzusehen, welcher den ursprünglich vorhandenen Nutrizeptor A besetzt. Eine Erhaltung der Spirillen und damit die Einleitung des ersten Rezidivs findet dadurch statt, daß die wenigen überlebenden Individuen durch eine rasch eintretende mutative Veränderung den außer Funktion gesetzten Nutrizeptor A durch die Entwicklung eines in potentieller Anlage vorhandenen Nutrizeptors B ersetzen. Dieser ermöglicht nun Ernährung und Vermehrung der Parasiten, bis die Ausbildung eines zweiten Antikörpers, der auf diesen Nutrizeptor B eingepaßt ist, auch hier der Existenz der Mehrzahl der Spirillen ein Ziel setzt und die zweite Krisis herbeiführt. Dieses Spiel kann sich nun solange wiederholen, als die Parasiten imstande sind, durch die Neubildung von Nutrizeptoren der Antikörperwirkung zu entgehen.

Setzt man nun voraus, daß diese Fähigkeit bei den Rekurrensspirillen eine beschränkte ist und sich nach der Neubildung von wenigen Nutrizeptorarten erschöpft hat, so bleibt höchstens noch für die Parasiten die Möglichkeit offen, den physiologisch ursprünglich vorhanden gewesenen Nutrizeptor A von neuem auszubilden. Aber auch dieser findet einen von der ersten Krisis her vorhandenen, auf ihn eingestellten Anti-

körper vor, und damit sind die Existenzmöglichkeiten der Spirillen ein für allemal erschöpft. Ihre Ernährung ist weiterhin nicht mehr möglich und damit die endgültige Heilung erzielt.

Dieses Beispiel dürfte genügen, um die Brauchbarkeit dieser zunächst fremdartig anmutenden Vorstellung zu erweisen und zu zeigen, daß sie dem Komplex überraschender und eigenartiger biologischer Erscheinungen gerecht wird, den das Phänomen der Serumfestigkeit bis jetzt gezeigt hat. Die Vorstellungen sind im einzelnen mancher Variation fähig und damit wohl auch imstande, sich weiteren Erfahrungen anzupassen.

Man darf die Entdeckung und die experimentelle und theoretische Ergründung der **Arzneifestigkeit** und der **Serumfestigkeit** wohl als die hervorragendsten Leistungen Ehrlichs auf dem Gebiete der biologisch-chemotherapeutischen Forschung bezeichnen. Das Studium der Serumfestigkeit wird noch für lange Zeit die Lehre von den Protozoenerkrankungen und ihrer Bekämpfung beherrschen. Die Gesetze der Arzneifestigkeit gelten offenbar in weitem Bereich nicht nur für das Gebiet der Protozoen, sondern auch für das der Bakterien, und ihre Erforschung muß Schritt für Schritt jedem Fortschritt auf dem Gebiet der Chemotherapie folgen. Die Lehre von den Nutrizeptoren und Chemozeptoren wird in Zukunft weitere Vertiefung, Ausgestaltung und wohl auch Umgestaltung erfahren, kein Forscher aber wird sich über die von Ehrlich und seiner Schule aufgefundenen **fundamentalen Phänomene** hinwegsetzen können.

Die Leistungen der Chemie werden der chemotherapeutischen Forschung noch eine gegenwärtig unübersehbare Reihe von Möglichkeiten eröffnen, aber die wissenschaftliche Synthese der experimentellen Erfahrung muß stets auf die von Ehrlich geschaffenen biologischen Fundamente sich stützen. Es wird als das gewaltige, dauernde Verdienst Ehrlichs angesehen werden müssen, daß er als Chemiker eine ungeahnte Reihe neuer therapeutischer Möglichkeiten geschaffen, als Biologe die hieraus entspringende, verwirrende Fülle der Erscheinungen mit der ganzen Kraft seiner Intuition in ordnende Prinzipien gebannt hat.

3.

# Experimentelle Grundlagen der Salvarsanwirkung.

Von

**S. Hata** und **K. Shiga,**

Tokio.

Bevor wir die experimentellen Grundlagen der Salvarsanwirkung, die von Ehrlich und seinen Mitarbeitern bearbeitet und festgestellt sind, systematisch zusammenfassen, möchten wir die Geschichte der Erfindung des Salvarsans und die weitere Entwicklung der experimentellen Salvarsanstudien kurz schildern.

Die Auffindung des Salvarsans ist keineswegs das Resultat einer Zufallsentdeckung, sondern die Frucht jahrelanger Studien und umfangreicher systematischer Arbeit. Das Salvarsan verdankt seinen Ursprung den prinzipiellen Ideen, welche Ehrlich schon im allerersten Anfang seines wissenschaftlichen Lebens konzipiert hatte. Das Prinzip besteht darin, daß eine chemische Substanz nur auf diejenigen Körpersysteme einwirken kann, zu denen sie Verwandtschaft hat, und von denen sie fixiert wird. Ehrlich (vgl. [1–4] u. a.) hat dies kurz in dem Satz: „corpora non agunt nisi fixata" (l. c. [3] u. [5]) zusammengefaßt. Die chemische Verwandtschaft und somit die Verteilung im Tierkörper und auch die physiologische Wirkung einer Substanz ist aber nicht nur von ihren Elementen, sondern vielmehr auch von ihrer Konstitution abhängig. So war und ist es für Ehrlich schon seit mehr als einem Vierteljahrhundert das prinzipielle Problem, die Beziehungen zwischen Konstitution und physiologischer Wirkung der chemischen Körper in ihren letzten und feinsten Einzel-

[1]) Berl. klin. Wochenschr., H. 9—12, **1907** [*93*].
[2]) Ber. d. Deutsch. Chem.-Ges., **XLII**, 17, **1909** [*108*].
[3]) Zeitschr. f. ärztl. Fortbildg., Nr. 23, S. 721, **1909** [*111*].
[4]) Soziale Kultur u. Volkswohlfahrt usw., S. 345, Berlin (Stilke), **1913** [*148*].
[5]) Chemotherapie der Spirillosen (l. c. [3]), S. 114, Berlin (Springer), **1910** [*125*].

heiten zu analysieren. Von diesem Hauptstamm verzweigte sich seine Forschung nach verschiedenen Richtungen und mehreren Gebieten der Medizin und Biologie, wie es dem Leser dieses Buches sofort ersichtlich ist. Sind alle Zweige von demselben Stamm, dem vorgenannten Prinzip entsprossen, so ist die Chemotherapie auch nichts anderes als ein Zweig dieses Stammes. Die Idee, daß ein Arzneistoff ausschließlich auf die Körpersysteme wirken könne, von denen er aufgenommen wird, hat wohl schon älteren Forschern vorgeschwebt. Sie hat aber ihre experimentelle Basis erst durch Ehrlichs bahnbrechende Versuche der vitalen Farbstoffinjektionen gefunden. Bei der vitalen Färbung hat Ehrlich neurotrope, lipotrope und polytrope Farbstoffe unterschieden. Ein Stoff kann nur auf das Nervensystem wirken, wenn er neurotrop ist, nur auf einen Parasiten, wenn er parasitotrop ist, d. h. Parasiten können nur von solchen Stoffen abgetötet werden, zu denen sie eine gewisse Verwandtschaft haben, dank deren eine Verankerung erfolgen kann. Allerdings waren auch Schwierigkeiten vorhanden, die darin bestehen, daß Substanzen, die zur Abtötung der Parasiten dienen, auch Gifte sein können, d. h. eine Verwandtschaft zu lebenswichtigen Organen, also gleichzeitig auch Organotropie besitzen. Es ist ohne weiteres ersichtlich, daß nur solche Substanzen praktisch als Heilstoffe verwendet werden können, in denen Organotropie und Parasitotropie in einem richtigen Verhältnis stehen. Diese Anschauung wurde erst verwirklicht durch die chemotherapeutischen Versuche an Trypanosomen, bei welchen Ehrlich in Gemeinschaft mit Shiga[6]) zur Auffindung eines wirksamen Farbstoffes, des Trypanrots, gelangte. Durch diese grundlegenden Versuche wurden ganz neue Wege in der Therapie der Infektionskrankheiten eröffnet.

Im Jahre 1902 wurde bereits das Atoxyl, welches vor mehr als 30 Jahren von Béchamp hergestellt wurde, zu den Heilversuchen Shigas an den mit Trypanosomen (Mal de Caderas) infizierten Mäusen herangezogen. Die Resultate waren jedoch nicht befriedigend, weil zufälligerweise der damals allein vorhandene Stamm eine relativ hohe Atoxylresistenz besaß. Die Versuche wurden daher erst 1905 wieder aufgenommen, als Thomas bei einem Trypanosomenstamm günstige Atoxylwirkungen beschrieben hatte. Ehrlich hat dann in Gemeinschaft mit Bertheim[7]) die chemische Konstitution des Atoxyls festgestellt und gefunden, daß das Atoxyl das Na-Salz der p-aminophenylarsinsäure darstellt. Bei seinen weiteren Studien über den Wirkungsmechanismus des Atoxyls hat Ehrlich drei Oxydationsstufen der Benzolverbindungen

[6]) Berl. klin. Wochenschr., H. 13/14, **1904** [*211*].
[7]) Ber. d. Deutsch. Chem.-Ges., **XL**, 3292, **1907** [*162*]

des Arsens unterschieden und festgestellt, daß nur bei dreiwertigen Arsenverbindungen das Arsen seine antiparasitäre Wirkung vollständig ausüben kann. Es ist dies ein bedeutungsvoller Fortschritt in der Chemie der Arsenobenzolverbindungen und auch insbesondere in der Chemotherapie mit Arsenikalien. Ohne diese Erkenntnis wäre die synthetische Darstellung des Salvarsans unmöglich gewesen.

Nach den jahrelangen Forschungen und systematischen Versuchen gelang es dann Ehrlich einige gegen Trypanosomeninfektionen sehr wirksame Arsenobenzolpräparate, wie Arsacetin, Arsenophenylglycin aufzufinden. Bei seinen weiteren Forschungen hatte sich inzwischen aber eine Schwierigkeit herausgestellt. Um praktisch weiter zu kommen, schien es notwendig, sich nicht mit der Feststellung zu begnügen, daß solche Substanzen, welche möglichst wenig organotrop und möglichst stark parasitotrop sind, als Heilstoffe praktische Verwendung finden können, sondern tiefer in den Mechanismus einzudringen und zu sehen, in welcher Weise die Arzneistoffe von den Zellorganen fixiert werden. Hier waren es besonders die Trypanosomenstudien, vor allem die eingehende Untersuchung der arzneifesten Stämme, die zu ganz eindeutigen Beobachtungen über die Vorgänge der Fixierung führten (l. c. [1—4]). Über die arzneifesten Stämme hat Ehrlich in Gemeinschaft mit Franke, Browning, Röhl, Gulbranson, Neven, Werbitzki, Kudicke, Marks, Terry, Leupold viel gearbeitet, und er hat dabei den Mechanismus der Arzneiwirkung auf die Trypanosomen und auch einige Bakterien geklärt. Daß das Vorhandensein des Verankerungsapparates — des Chemozeptors der Parasiten — eine wichtigste Vorbedingung der Chemotherapie ist, wurde durch diese Versuche festgestellt, sogar zum Teil direkt ersichtlich gemacht.

Als die chemotherapeutischen Studien ihren höchsten interessanten Punkt erreichten, nahm Hata unter Leitung Ehrlichs an der Übertragung der bisherigen Ergebnisse der Trypanosomenversuche auf die Spirochätenerkrankungen Teil. Es war damals schon eine Schar von Substanzen auf ihre Giftigkeit, sowie auf ihre Wirkung durchprüft worden. Diese Erfahrungen Ehrlichs in der Trypanosomenforschung gaben die wichtigsten Grundlagen für die Erforschung der Chemotherapie der Spirochäten und setzten Hata in eine besonders günstige Lage, so daß nach nicht allzu langer Zeit unter der großen Zahl der geprüften Verbindungen das Salvarsan als das optimal wirksame Produkt herausgefunden werden konnte. Hata hat zuerst zahlreiche Farbstoffe auf ihre spirillozide Wirkung untersucht und kam dann bald zu Versuchen mit Arsenikalien, und zwar wurden fast alle Arsenikalien, nicht nur die im Speyer-Haus von Ehrlich, Bertheim und R. Kahn hergestellten, sondern auch die

von anderen Stellen stammenden, einer genauen Durchprüfung unterzogen. Es muß besonders hervorgehoben werden, daß Ehrlichs Scharfsinn sofort erkannte, daß bei chemotherapeutisch wirksamen Benzolderivaten, welche zwei differente pharmakodynamische Substituenten enthalten, von denen eine salzbildend wirkt (OH- und $NH_2$-Gruppe), eine Erhöhung der Wirkung eintreten mußte, wenn ein drittes Substituent in Orthostellung zur salzbildenden Gruppe tritt. Den ersten Hinweis auf die Bedeutung der Orthostellung erbrachte Ehrlich schon bei den Studien über Trypanrot und seine Homologen, da hier der Azorest in Orthostellung zur Amidogruppe des Naphthalins eintritt. Außerdem hat sich auch gezeigt, daß das Parafuchsin eine weit stärkere Wirkung entfaltet, wenn Halogenreste in Orthostellung zur Amido-gruppe treten. Von diesem Gesichtspunkte ausgehend, gelangten Ehrlich und Hata endlich zu dem Dioxydiamidoarsenobenzol, dem Salvarsan[8]). So ist das Salvarsan eine glänzende Frucht auf dem Zweige des großen, von Ehrlich jahrelang gepflegten Stammes und doch erscheint es nur als ein kleiner Teil der Ernte, wenn man es mit den gesamten Arbeiten Ehrlichs vergleicht. Wenn man aber sagen wollte, wie dies von mancher Seite geschehen ist, daß das Dioxydiamidoarsenobenzol dem schon in seiner parasitiziden Wirkung erkannten Atoxyl nahe verwandt sei und daher die Synthese des Salvarsans nur einen kleinen Fortschritt darstelle, so würde das ein erhebliches Verkennen des Wesens der hier vollbrachten Leistung bedeuten. Ein wie langer und schwieriger Weg notwendig war, um zu dem im Dioxydiamidoarsenobenzol erreichten Ziel zu gelangen, und wie weit das Salvarsan vom chemischen Standpunkt aus vom Atoxyl entfernt ist, ist aus dem an früherer Stelle behandelten Kapitel „Chemie der Arsenverbindungen" leicht zu ersehen. So imponiert die Auffindung des Salvarsans als ein gewaltiger Fortschritt in der Chemie der Arsenobenzolverbindungen und noch mehr in der Chemotherapie der Spirillosen.

Das Salvarsan wurde von Hata[9]) bei Rekurrens, Lues und in besonders eklatanter Weise bei Hühnerspirillose als wirksam erkannt. In gleicher Weise hat es sich auch in den Versuchen von Nichols (l. c. [8], S. 87) und Castelli[10]) bei experimenteller Frambösie vorzüglich bewährt.

Als nun das Salvarsan in die Praxis eingeführt wurde, traten viele Schwierigkeiten auf, deren Ursachen notwendigerweise im Laboratorium

---

[8]) Ehrlich-Hata, Die experimentelle Chemotherapie der Spirillosen, Berlin (Springer), **1910** [*180*].

[9]) Chemotherapie der Spirillosen (l. c. [8]), S. 1, **1910** [*365*].

[10]) Zeitschr. f. Chemotherapie, **1**, 167, **1912** [*332*].

gründlich untersucht werden mußten. So nahm Ehrlich[11)12)13)] mit Margulies[14)], Yakimoff und Kohl-Yakimoff[15)16)], Gonder[17)] und Castelli (l. c. [10)]) noch weitere Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus, Toxizität und Anwendungsweise des Salvarsans vor und brachte die vielen Fragen, welche durch die Faktoren des Wasserfehlers, der salvarsanfesten Stämme, der Applikationsweise gegeben waren, zur Aufklärung. Außerdem hat Ehrlich die Herstellung neuer Derivate des Salvarsans unermüdlich fortgeführt, und schließlich kam er zur Auffindung des Neosalvarsans, welches in seiner einfachen Löslichkeit einen Vorzug vor dem alten Salvarsan hat und sich auch nach Castellis Versuchen[18)19)20)21)] als mindestens ebenso wirksam, sogar bei Luesversuchen noch wirksamer als das letztere erwiesen hat.

So ist die Geschichte der Salvarsanversuche im Ehrlichschen Laboratorium kurz geschildert, und wir möchten nunmehr das Resultat dieser Versuche nach folgenden Einteilungsprinzipien zusammenfassen:

a) Toxizität des Salvarsans.
b) Wirkung des Salvarsans auf verschiedene Parasiten.
c) Wirkungsmechanismus des Salvarsans.
d) Salvarsanfeste Stämme.

### a) Die Toxizität des Salvarsans.

Das Salvarsan ist an und für sich natürlich ein Gift; wenn man es in überschüssiger Dose den Tieren verabreicht, so werden sie getötet. Die Giftigkeit des Salvarsans hängt aber von der Reinheit des Präparates, der Technik der Auflösung und insbesondere der Applikationsweise des Mittels ab. Wenn man z. B. ein unreines Präparat, welches außer dem Dioxydiamidoarsenobenzol noch eine Spur von dem p-oxyphenylarsenoxyd enthält, untersucht, so findet man eine viel höhere Toxizität, als bei der Untersuchung eines reinen Präparates. Das Arsenoxyd, dessen Giftigkeit eine ungleich größere ist, als diejenige der Arsenoverbindungen, entwickelt sich auch bei einfachem Stehen der Lösung, wenn sie der

[11)] Abhandlungen über Salvarsan, München (Lehmann), **I**, 375, **1911** [*131*].
[12)] Ebenda, **II**, 547, **1912** [*138*].
[13)] Ebenda, **III**, 545, **1913** [*147*].
[14)] Deutsche med. Wochenschr., H. 41, 1907, **1910** [*418*].
[15)] Münch. med. Wochenschr., H. 49, **1911** [*606*].
[16)] Ebenda, H. 3, **1912** [*607*].
[17)] Arch. f. Schiffs- und Tropenhygiene, **XVI**, 37, **1912** [*352*].
[18)] Deutsche med. Wochenschr., H. 32, **1912** [*328*].
[19)] Ebenda, H. 35, **1912** [*329*].
[20)] Zeitschr. f. Chemotherapie, **I**, 122, **1912** [*331*].
[21)] Ebenda, **I**, 321, **1912** [*333*].

Oxydationswirkung der Luft ausgesetzt ist. Dies ist insbesondere beim Neosalvarsan der Fall. Als Hata (l. c. [9]) das Salvarsan damals auf seine Toxizität untersuchte, erhielt er folgende Resultate:

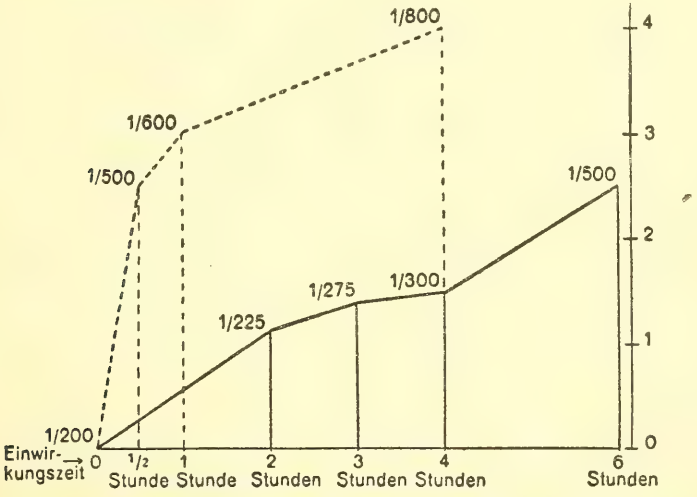
| Tierspezies | Anwendungsweise | Dosis tolerata |
|---|---|---|
| Maus | subkutan | 1:300 pro 20 g |
| Maus | intravenös | 1:350 pro 20 g |
| Ratte | subkutan | 0,2 pro 1 kg |
| Huhn | intramuskulär | 0,25 „ 1 „ |
| Huhn | intravenös | 0,08 „ 1 „ |
| Kaninchen | intravenös | 0,1 „ 1 „ |
| Kaninchen | subkutan | 0,15 „ 1 „ |

Die Technik der Darstellung des Salvarsans ist aber seither erheblich verfeinert worden, so daß das Präparat in ganz reinem Zustande vorliegt. Außerdem ist die Technik der Auflösung des Salvarsans so verbessert worden, daß jetzt ohne einen Überschuß von Alkali sofort eine klare alkalische Lösung hergestellt werden kann. Die tausendfach im Speyerhaus von Fräulein Leupold ausgeführten Versuche zur Bestimmung der Toxizität jeder Operationsnummer des Salvarsans gestatten die Behauptung, daß nunmehr 1 ccm einer Lösung von 1:150 des Salvarsans, subkutan injiziert, von jeder normalen, 20 g schweren Maus vertragen wird. Die subkutane Injektion einer Lösung von 1:125 führte nur bei einem Teil der injizierten Tiere zum Tode. Dies ist die Toxizitätsgrenze. Die verträgliche Dosis der alkalischen Lösung von Salvarsan ist geringer, wenn die Darreichung auf intravenösem Wege erfolgt. Eine 20 g schwere Maus verträgt so die Injektion von 1 ccm einer Lösung von 1:350. Bei der Untersuchung der Giftigkeit des Neosalvarsans hat Castelli (l. c. [21]) eine interessante Beobachtung gemacht, nämlich daß die Dosis tolerata resp. Dosis letalis bei Kaninchen bei intravenöser Injektion in weiten Grenzen schwankt und sich zwischen 0,08 und 0,3 pro kg bewegt. Wie Versuche von Castelli ergeben haben, dürfen bei der Anwendung von Neosalvarsan drei Faktoren nicht übersehen werden:

1. der Gebrauch frisch destillierten Wassers,
2. eine Technik, die eine Autooxydation zu verhindern imstande ist,
3. die Verwendung eines einwandfreien Tiermaterials.

Solange Castelli bei Neosalvarsan dieselbe Technik wie bei allen anderen Präparaten anwandte (zweimaliges Umgießen der Lösung, Messen der Quantität mittels einer Pipette, Aufsaugen und Injektion mit einer gewöhnlichen Rekordspritze), betrug die Dosis tolerata 0,08 g pro kg. Eine höhere Dosis führte stets ohne Ausnahme zu einer ständigen Ge-

wichtsabnahme der Tiere, zu verminderter Freßlust, zu Durchfällen und in kurzen Zeiträumen zum Tode. Seitdem aber besondere Aufmerksamkeit darauf verwandt wurde, daß die Lösung nicht mit der Luft in Berührung kam — schon die Luft, mit welcher das Neosalvarsan während der Aufsaugung in die Spritze in Berührung kommt, genügt, um die Toxizität zu steigern —, konnte die Dosis tolerata auf 0,3 g pro kg gesteigert werden. Wie aus der nachfolgenden Kurve (vgl. Ehrlich, l. c. [4]) ersichtlich ist, erhöht sich die Toxizität des Neosalvarsans sehr rasch und erheblich, wenn die Lösung der Oxydation, nämlich einer einfachen Einwirkung der Luft ausgesetzt ist.




**Toxizitätserhöhung von Salvarsan (liniiert) und Neosalvarsan (punktiert) durch Oxydation.**

Durch eine sorgfältige Untersuchung gelangte schließlich Castelli zu den folgenden Resultaten:

**Zusammenfassende Tabelle der Versuche über die Dosis tolerata des Dioxydiamidoarsenobenzols (Castelli).**

| Tier | Art d. Injektion | Salvarsan (g) | Neosalvarsan (g) |
|---|---|---|---|
| Maus (pro 15 g) . . | intravenös | 0,002145 | 0,00375 |
| | subkutan | 0,00375 | 0,001275 |
| Huhn (pro kg) . . | intravenös | 0,08 | 0,06 |
| | intramuskulär | 0,25 | 0,1 |
| Taube (pro kg) . . | intravenös | 0,08 | 0,12 |
| | intramuskulär | 0,09 | 0,04 |
| Kaninchen (pro kg) | intravenös | 0,1 | 0,2 |
| | intramuskulär | 0,15 | 0,1 |

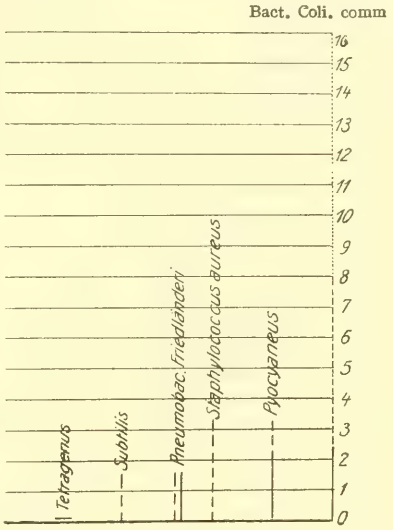
Aus dieser Tabelle ersieht man, daß sowohl die Maus, wie auch die Taube und das Kaninchen eine viel höhere Dosis Neosalvarsan, als Salvarsan vertragen, wenn sie intravenös verabreicht wird; bei subkutaner oder intramuskulärer Injektion ist dagegen die Dosis tolerata geringer. Dieses Verhältnis zwischen der Toxizität und der Darreichungsart tritt deutlich auch beim Huhn hervor. Die merkwürdige Tatsache, daß die subkutane Einverleibung eines Präparates stärker toxisch wirkt, als die intravenöse, erklärt sich ohne weiteres aus der raschen Oxydationsfähigkeit des Neosalvarsans. Die erhöhte Toxizität des Neosalvarsans bei subkutaner Applikation hat nämlich ihren Grund darin, daß die einverleibte Neosalvarsanlösung in dem subkutanen Bindegewebe der Maus einer starken Oxydation unterworfen ist und das Neosalvarsan sich in das p-oxyphenylarsenoxyd verwandelt, dessen Giftigkeit eine ungleich größere ist, als diejenige der Arsenoverbindungen. Das Neosalvarsan ist also an und für sich weniger giftig, als das Salvarsan. Wenn es jedoch infolge verspäteter Darreichung oder infolge subkutaner oder intramuskulärer Injektion erst dann in den Blutkreislauf gelangt, nachdem es oxydiert ist, kann es eine noch giftigere Wirkung, als das Salvarsan hervorrufen.

Die neurotrope Giftigkeit des Salvarsans ist von vielen Seiten wiederholt diskutiert worden. Die unangenehmen Nebenerscheinungen von seiten des Nervensystems, wie Zittern, Tanzen und besonders Amaurosen, die durch Arsinsäureverbindungen, wie Atoxyl, Arsacetin usw. sehr leicht erzeugt werden, sind jedoch bei Tausenden von Tierversuchen, die im Speyer-Haus mit Dioxydiamidoarsenobenzol ausgeführt wurden, niemals wahrgenommen worden. Von dieser Regel macht allerdings die subkutane Injektion der Maus mit Neosalvarsan eine Ausnahme, wobei Zittern der Maus von Castelli (l. c. [21]) beobachtet wurde. Dieser Umstand hat aber seine Ursache nicht direkt in dem Mittel selbst, sondern in dem Oxydationsprodukt desselben. Ehrlich hat mit Unterstützung von Fräulein Leupold noch ganz besondere Versuche bezüglich der Giftwirkung auf das Nervensystem angestellt. Es wurden nämlich den Tieren relativ große Dosen von Salvarsan, wie auch von Neosalvarsan wiederholt injiziert.

So erhielt ein 2300 g schweres Kaninchen eine Gesamtdosis von ca. 6,8 g Salvarsan in 64 Injektionen innerhalb eines Zeitraumes von 139 Tagen. Dieses Tier vertrug die Behandlung ganz glatt, und am Ende des Versuchs wog es 3000 g. Einem anderen 2400 g schweren Kaninchen wurden 11,25 g Neosalvarsan in 66 Injektionen im Verlaufe von 139 Tagen injiziert und auch dieses Tier kam glatt davon. Bei Versuchen an Mäusen haben dieselben im Laufe von 20 Tagen die Riesendosis von 5,0 resp. 5,5 g Salvarsan pro kg erhalten. Wir sehen an diesen Beispielen, daß es möglich ist, Mäusen und Kaninchen im Verlaufe von 3—4 Monaten ganz immense Mengen von Neosalvarsan und Salvarsan zuzuführen.

Es lag nun nahe und war von großer Wichtigkeit, die einzelnen Organe derartig behandelter Tiere einer genauen Prüfung und mikroskopischen Untersuchung zu unterziehen. Doinikow[22]) unterzog sich der Aufgabe, das Zentralnervensystem dieser Tiere zu untersuchen, wobei er niemals Veränderungen am Nervensystem fand. (Verwiesen sei in diesem Zusammenhange auch auf die Untersuchungen Röthigs[23]) am Zentralnervensystem der mit Arsacetin behandelten Mäuse).

Die Erfahrung Wechselmanns, daß die Bakterienproteine, welche in dem zur Salvarsaninjektion dienenden Wasser enthalten sind, starke Fieberreaktionen hervorrufen, hat dann Ehrlich veranlaßt, den Grund dieser merkwürdigen Erscheinung, des sogenannten „Wasserfehlers", aufzuklären. Yakimoffs und Kohl-Yakimoffs (l. c. [15], [16]) Versuche haben nun ergeben, daß die Bakterien, selbst wenn sie nur in geringer Menge und ganz sterilisiert in der Salvarsanlösung vorhanden sind, die Giftigkeit derselben je nach der Art der Bakterien mehr oder weniger erhöhen, und daß diese Toxizitätserhöhung bedeutend stärker bei den mit Trypanosomen infizierten, als bei gesunden normalen Tieren zutage tritt. Das Endresultat ihres Versuchs läßt sich kurz aus nebenstehender Tabelle ersehen.




**Toxizitätserhöhung von Salvarsan durch Mikroben.**

ohne Trypanosomeninfektion

mit schwacher Trypanosomeninfektion

mit starker Trypanosomeninfektion

Hierauf unterzog Gonder (l. c [17]) diese Resultate einer Nachprüfung und gelangte zu dem Schluß, daß die Bakterienproteine nicht nur die Giftigkeit des Salvarsans erhöhen, sondern auch seine Heilwirkung abschwächen. Gonder hat noch einige Untersuchungen über die Frage des sogenannten anorganischen Wasserfehlers angestellt und fand, daß ein Zusatz von Ca- oder Mg-Salzen zu einer sauren Salvarsanlösung die Giftigkeit derselben bedeutend erhöht. Für seine Versuche waren

[22]) Münch. med. Wochenschr., H. 15, **1913** [*338*].
[23]) Frankfurter Zeitschr. f. Pathol., **III**, 267, **1909** [*529*].

nur saure Lösungen von Wichtigkeit, da das Vorhandensein dieser Salze bei der Herstellung der sauren Salvarsanlösung nicht einfach wahrzunehmen ist. Die alkalische Lösung, in der diese Salze einen starken Niederschlag bilden, wird man natürlich in der Praxis nicht injizieren, weshalb auch Gonder mit der alkalischen Lösung keine Versuche anstellte.

Es steht also die von Ehrlich schon von Anfang an behauptete Forderung, zur Herstellung der Salvarsanlösungen nur chemisch reines Wasser und Kochsalz zu verwenden, noch immer unerschüttert da. Man darf zur Untersuchung der Giftigkeit des Salvarsans nur frisch destilliertes, bakterienfreies Wasser und chemisch reines Kochsalz benutzen und muß möglichst rasch arbeiten, um eine Oxydation zu vermeiden. Dies gilt natürlich auch bei der praktischen Anwendung des Mittels als prinzipiell wichtigste, unentbehrliche Bedingung.

### b) Wirksamkeit des Salvarsans bei verschiedenen Parasitenkrankheiten.

In seinen ersten Heilversuchen dienten Hata (l. c. [9]) als Versuchsobjekte die Spirillen des Rekurrens, der Hühnerspirillose und der Syphilis.

Wenn man Ratten oder Mäusen virulente Rekurrensspirillen enthaltendes Blut einimpft, so wird eine Krankheit erzeugt, die genau so wie das Rückfallfieber des Menschen verläuft.

Nach der Infektion treten im Blut der Tiere Spirillen auf, und diese vermehren sich so stark, daß nach 3—4 Tagen das Blut mit unzähligen Parasiten überschwemmt ist. Dann verschwinden sie plötzlich aus dem zirkulierenden Blut, um nach einem etwa dreitägigen Intervall wieder zu erscheinen. Das erste Rezidiv dauert gewöhnlich etwa 3 Tage; vom zweiten Rezidiv an wird der Anfall immer leichter. In der Krise des ersten Anfalles gehen manche Versuchstiere zugrunde.

Der Verlauf und die Mortalität hängt natürlich von der Virulenz und der Dose des eingeimpften Virus ab; man kann also je nach der Impfdose beliebig verschieden starke Erkrankungen hervorrufen.

24 Stunden nach der Infektion, nachdem also die Spirillen im Blut mikroskopisch nachweisbar sind, wird das zu untersuchende Mittel den Versuchstieren eingespritzt. Hat das Mittel eine gewisse antiparasitäre Wirkung, so werden die Spirillen nach 1—2 Tagen im Blut nicht mehr nachzuweisen sein. Wenn aber die Wirkung des Mittels entweder zu schwach oder die angewandte Dosis zu klein war, um die Parasiten vollkommen abzutöten, so werden diese nach verschieden langer Pause wieder erscheinen; die Krankheit wird also rezidivieren.

Unter verschiedenen Farbstoffen und Arsenikalien hat Hata eine ganze Anzahl von Mitteln derart wirksam gefunden, daß sie vorübergehend die Parasiten aus dem Blut verschwinden ließen und demzufolge

die Krankheit abschwächten, aber nicht imstande waren, eine dauernde Sterilisierung herbeizuführen.

Eine Wirkung dagegen, die so groß ist, daß durch eine einzige Injektion einer von dem Versuchstier leicht ertragenen Dosis dauernde Heilung erzielt wird, fand er nur bei einigen Arsenikalien von bestimmter Konstitution. Ein Vertreter dieser Substanzen war das im Speyer-Haus von Bertheim dargestellte Dioxydiamidoarsenobenzol, das Salvarsan:

| | Dosis tolerata (T) | Dosis curativa (C) | $\frac{C}{T}$ |
|---|---|---|---|
| Maus . . . . . | $^1/_{300}$ g pro 20 g | $^1/_{800}$ g pro 20 g | $^1/_{2,7}$ |
| Ratte . . . . . | 0,2 g pro kg | 0,6 g pro kg | $^1/_3$ |

Auch mit kleineren Dosen lassen sich Heileffekte erzielen, doch nur bei wiederholter Anwendung derselben.

**Resultate aller Heilversuche mit Dioxydiamidoarsenbenzol bei Mäusen.** (Recurrens.)

| Dosis | Dauernde Heilung erzielt nach | | |
|---|---|---|---|
| | 1 maliger Anwendung | 2 maliger Anwendung | 3 maliger Anwendung |
| | % | % | % |
| 1:600 | 100 | — | — |
| 1:700 | 100 | — | — |
| 1:800 | 100 | — | — |
| 1:1000 | 75 | 100 | 100 |
| 1:1500 | 18 | 75 | 100 |
| 1:2000 | 16 | 66 | 100 |
| 1:3000 | 0 | 0 | 33 |

Das Mittel zeigte auch eine gewisse, aber nur kurzdauernde Schutzwirkung gegen Rekurrens bei Mäusen und besonders bei Ratten.

Im Vergleich zum Rekurrens der Mäuse und Ratten ist die Hühnerspirillose viel leichter zu heilen. Uhlenhuth gelang es zuerst, mit Atoxyl und atoxylsaurem Quecksilber diese Krankheit zur Heilung zu bringen. Das Arsacetin und Arsenophenylglycin, welche beide, ebenso wie das Atoxyl und das atoxylsaure Quecksilber, bei Rekurrens der Mäuse fast keine Wirkung entfalten, sind imstande, Hühnerspirillosen glatt zu heilen. Gerade ihre leichte Heilbarkeit macht die Hühnerspirillose zu einem geeigneten Testobjekt, um ein Mittel auf seine spirillozide Wirkung überhaupt und insbesondere verschiedene Mittel auf ihre Wirksamkeit vergleichend zu prüfen. In der nachfolgenden Tabelle sehen wir das Re-

sultat der vergleichenden Untersuchungen, die Hata mit den hier in Frage kommenden Mitteln angestellt hat.

**Resultate der Heilversuche bei Hühnerspirillose.**

| Infektion intramuskulär | Behandlung zwei Tage nach der Infektion ebenfalls intramuskulär | | |
|---|---|---|---|
| Mittel | (T) Dosis tolerata pro kg | (C) Dosis curativa pro kg | $\frac{C}{T}$ |
| Atoxyl . . . . . | 0,06 | 0,03 | $\frac{1}{2}$ |
| Arsacetin . . . . . | 0,1 | 0,03 | $\frac{1}{3}$ |
| Arsenophenylglyzin . . . . . | 0,4 | 0,12 | $\frac{1}{3,3}$ |
| Arsanilsaures Quecksilber . . . . | 0,1 | 0,04 | $\frac{1}{2,5}$ |
| Dioxydiamidoarsenobenzol . . . | 0,2 | 0,0035 | $\frac{1}{57}$ |

Aus diesem Vergleich geht klar hervor, daß die ersten vier Mittel viel ungünstiger wirken als das letztere, das in dem Quotienten C/T ein ganz ideales Verhalten zeigt.

Bei den prophylaktischen Versuchen mit dem Dioxydiamidoarsenobenzol wurde eine sehr interessante Tatsache gefunden, über die wir hier kurz referieren. Hata injizierte Hühnern 0,07 g pro kg intramuskulär und fand, daß die Tiere sich noch nach 30 Tagen gegen eine Infektion vollkommen refraktär verhielten. 35 Tage nach der Behandlung ging die Infektion wohl an, aber nur ganz leicht, und erst nach 50 Tagen war keine Schutzwirkung mehr nachweisbar. Wird dagegen das Mittel intravenös angewandt, so dauert die Schutzwirkung kaum 4 Tage, und 6 Tage nach der Behandlung verhält sich das Tier gegenüber der Infektion ganz wie ein normales.

Die Ursache der enorm langen Dauer der Schutzwirkung bei intramuskulärer Injektion wurde sofort dadurch klar gelegt, daß sich an der Injektionsstelle ein großes Depot des Mittels fand. Der Muskel wird durch das Mittel koaguliert, und letzteres bleibt von dem koagulierten Muskel lange Zeit lokal fest gebunden. Ganz allmählich wird die Substanz aus der koagulierten Masse resorbiert und geht in das Blut über, aber selbst 50 Tage nach der Injektion ist das Depot im Muskel noch deutlich nachweisbar. Wie wir oben bei Besprechung der Heilversuche gesehen haben, tötet schon eine minimale Menge der Substanz die Parasiten ab. Die vom Depot aus resorbierten geringen Quantitäten genügen offenbar, um die Entwicklung der Parasiten hintanzuhalten.

Hata hat damals seine Meinung über die praktische Anwendung des Salvarsans folgendermaßen geäußert:

„So einfach die Erklärung dieser Tatsache ist, für die praktische Anwendung des Mittels hat sie unzweifelhaft eine große Bedeutung. Für die Prophylaxe der Hühnerspirillose ist die intramuskuläre Applikation der intravenösen unbedingt vorzuziehen, weil bei ersterer die Schutzwirkung viel sicherer und dauernder ist, als bei letzterer.

Da noch unbekannt ist, ob bei derartigen Depots nicht schließlich unvorhergesehene Schädigungen, plötzliche Intoxikationen auftreten, die betreffenden Stellen auch möglicherweise lange Zeit hindurch schmerzhaft sein werden, ist in der menschlichen Therapie meiner Ansicht nach die intravenöse Applikation, bei der das Mittel binnen wenigen Tagen vollkommen aus dem Körper ausgeschieden wird, der intramuskulären Einverleibung vorzuziehen."

Diese Behauptung Hatas ist nunmehr durch zahlreiche klinische Beobachtungen vollauf bestätigt.

Endlich hat Hata (l. c. [9]) auch Heilversuche bei Syphilis angestellt. Er verwandte hierzu Kaninchen, bei denen man bekanntlich drei Formen von syphilitischer Erkrankung experimentell erzeugen kann, nämlich die Keratitis syphilitica, den syphilitischen Schanker des Skrotums, den Truffi zuerst genau studiert hat, und die jüngst von Uhlenhuth beschriebene Orchitis syphilitica.

Die Keratitis des Kaninchens ist ein sehr unzuverlässiges Versuchsobjekt insofern, als die klinischen Symptome manchmal ganz schnell spontan verschwinden, um dann später wieder aufzutreten. Sie ist daher für Heilversuche nicht geeignet. Die Orchitis syphilitica eignet sich sehr gut für die Stammerhaltung, weil sie eine Reinkultur darstellt; chemotherapeutische Studien lassen sich aber auch mit ihr schlecht ausführen, weil die Anschwellung des Hodens von selbst bald zu-, bald abnimmt. Besonders aber sind diese beiden Formen der Kaninchensyphilis nicht geeignet für die wiederholte Untersuchung der Spirochäten, was gerade bei chemotherapeutischen Versuchen von großer Bedeutung ist. Beim Schanker geschieht dies ganz einfach und leicht dadurch, daß man mit einer kleinen Nadel in die Randinfiltration einsticht und etwas nachdrückt. Aus dem hervorquellenden kleinen Tröpfchen blutigserösen Saftes wird ein frisches Präparat hergestellt und dieses mit Hilfe der Dunkelfeldbeleuchtung unter dem Mikroskop untersucht.

Die Verimpfung auf das Skrotum geschieht in folgender Weise:

Man führt an einer Stelle des Skrotums eines gut ausgewachsenen Kaninchens einen kleinen Hautschnitt aus und macht einen flachen Hautsack, in den man einige Stückchen Impfmaterial möglichst tief hineinschiebt. Nach etwa 10—14 Tagen tritt an der Impfstelle eine kleine weiße oder etwas rötliche Infiltration auf, die langsam wächst, bis sie etwa Bohnengröße erreicht. Nach 4—5 Wochen nekrotisiert die Haut an dieser Stelle allmählich und bildet eine Kruste. Der Rand des auf diese Weise entstandenen Geschwürs ist knorpelhart und überragt hoch die gesunde umgebende Haut. Hebt man die feuchte Kruste ab, so tritt leicht Blutung ein aus dem schmutzig-nekrotischen Grunde, der manchmal so tief ist, daß die Randinfiltration sich steif vom Grunde abhebt. Das Bild ist also dem primären Schanker des Menschen sehr ähnlich. Die ganze Induration nimmt mit der Zeit an Größe und Dicke zu und erreicht bei 2 cm Dicke zuweilen die Größe eines Zweimarkstückes. Dieser Zustand

dauert mehrere Monate. Für den Heilversuch wurden nur diejenigen Tiere verwandt, die ein ganz ausgesprochenes Krankheitsbild zeigten, das dauernd bestand.

Vom Kaninchen wird eine intravenöse Injektion von 0,1 g des Dioxydiamidoarsenobenzols pro 1000 g Körpergewicht ganz glatt vertragen. Nachdem der Schanker auf dem Skrotum gut entwickelt ist und so unzählige Spirochäten aufweist, spritzt man eine genügende Dosis des Mittels einmal in die Vene. Schon am nächsten Tag sind die Spirillen vollkommen aus dem Schanker verschwunden, nach einigen Tagen ist die Kruste trocken und die Induration ganz weich; nach etwa 7 bis 10 Tagen ist sie ganz verschwunden, und die Kruste fällt ab. Binnen 2 bis 3 Wochen ist der große Schanker zu einer kleinen Narbe zurückgebildet. Die Schnelligkeit der vollständigen Vernichtung der Spirochäten ist natürlich von der Dosis, aber auch von der Größe und besonders der Dicke der Induration und der Zahl der Spirochäten abhängig. Ist die Dosis etwas zu klein oder der Schanker sehr dick, so verschwinden die Spirillen erst nach 2 bis 3 Tagen. Zur vollständigen Abheilung ist gewöhnlich eine Zeitdauer von 2 bis 3 Wochen nötig; das hängt natürlich von der Größe des Schankers und dem Vorhandensein von Eiterungen (also Mischinfektionen) ab. Wenn irgend eine andere Komplikation, z. B. Brustseuche hinzukommt, so kann sich die Heilung ganz bedeutend verzögern. Deshalb ist auch bei dem Studium der Wirkung eines Heilmittels das Verschwinden der Spirochäten ein weit sichereres Merkmal für die Heilung, als die Zeit, welche das vollständige Abheilen in Anspruch nimmt.

Bei den Heilversuchen Hatas mit Dioxydiamidoarsenobenzol wurden folgende Resultate erhalten:

**Resultat der Heilversuche bei Kaninchensyphilis mit Dioxydiamidoarsenobenzol. Einmalige intravenöse Injektion.**

| Dosis pro kg | Verhältnis zur Dosis tolerata | Spirochäten verschwinden binnen | Vollständige Heilung (falls ohne Komplikation) |
|---|---|---|---|
| 0,04 | $^1/_{2,5}$ | 24 Stunden | 2—3 Wochen |
| 0,03 | $^1/_3$ | 24 „ | 2—3 „ |
| 0,02 | $^1/_5$ | 24 „ | 2—3 „ |
| 0,015 | $^1/_7$ | 24 „ | 2—3 „ |
| 0,01 | $^1/_{10}$ | 2 Tagen | 2—3 „ |
| 0,0075 | $^1/_{14}$ | 2—3 Tagen | 2—3 „ |
| 0,005 | $^1/_{20}$ | 2—3 „ mit einer Ausnahme | 3—4 „ |
| 0,004 | $^1/_{25}$ | Nach 30 Tagen noch nicht verschwunden | nicht geheilt |
| 0,003 | $^1/_{30}$ | | |

Hiernach war zur sofortigen Sterilisation eine Dose von 0,015 bis 0,01 pro kg nötig. Es ist dies der siebente bis zehnte Teil der Dosis tolerata. Bei Kaninchen kann man aber mit noch kleineren Dosen, selbst bis 0,005 pro kg, also dem zwanzigsten Teil der Dosis tolerata, schließlich die Heilung erzielen. Aus seinen Versuchsresultaten hat Hata (l. c. [9]) den Schluß gezogen, der, wie folgt, lautet:

„Wie mir scheint, geht aus meinen bisherigen Versuchen hervor, daß wir in dem Dioxydiamidoarsenobenzol ein Mittel in der Hand haben, mit dessen Hilfe es gelingt, die beiden in den Spirochäten vorhandenen Rezeptoren so anzugreifen, daß die Parasiten im Tierkörper, ohne Gefahr für diesen, leicht vernichtet werden, d. h. die mit Spirochäten infizierten Tiere glatt zu heilen. Ich bin mir sehr wohl bewußt, daß damit die Wirksamkeit des Mittels am Krankenbett zunächst noch keineswegs sichergestellt ist. Das aber kann man schon jetzt sagen, daß die bisherigen Versuche immerhin wichtige Fingerzeige ergeben für die Wege, auf denen man zu einer wirklich wirksamen Therapie der Spirochätenerkrankungen gelangen kann."

In der XXVII. Versammlung des Deutschen Kongresses für innere Medizin, Wiesbaden, hat Hata[24]) gesagt:

„Wir sehen, daß wir hier ein Mittel besitzen, das auf die genannten drei Spirochätenarten sicher abtötend wirkt, ohne den Wirtsorganismus zu schädigen, d. h. das imstande ist, die mit Spirochäten infizierten Tiere glatt zu heilen. Ob das Mittel allen verschiedenen Anforderungen der Praxis gegenüber sich bewähren wird, kann erst die weitere Forschung, die noch im Laboratorium und am Krankenbett aufs sorgfältigste ausgeführt werden muß, entscheiden."

Es war also keineswegs behauptet worden, daß die Spirochätenerkrankungen, insbesondere die Lues beim Menschen, durch eine Injektion des Salvarsans geheilt werden können.

Als nun Ehrlich das Salvarsan dem Rockefeller-Institut sandte, hat Nichols (l. c. [8], S. 86) einen Heilversuch mit demselben bei mit Spirochaete pertenuis geimpften Kaninchen angestellt. Durch eine Injektion einer Dosis von 0,0045 g pro kg konnte er die Orchitis der Kaninchen binnen 2 bis 3 Tagen zur Heilung bringen, wobei die Spirochäten 24 Stunden nach der Behandlung ganz verschwunden waren.

Die von Hata und Nichols gemachten Versuche setzte dann Castelli (l. c. [10], [18]) weiter fort. Von seinen Heilversuchen ist besonders der Vergleich der Wirkung des Salvarsans mit derjenigen des Neosalvarsans auf Syphilis, sowie auf Frambösie hervorzuheben. Castelli (l. c. [20], [21]) hat in seinen Heilversuchen bei Mäuserekurrens und Hühnerspirillose mit Neosalvarsan unter der Voraussetzung, daß 1 g Neosalvarsan 0,66 g Salvarsan entspricht, ein ungefähr gleiches Resultat, wie

[24]) 27. Kongreß f. innere Med. 1910. Deutsche med. Wochenschr., H. 17, 822, **1910** [*366*].

Hata mit Salvarsan erhalten. Bei den Heilversuchen mit syphilitischen Kaninchen liegt die Sache etwas anders. Castellis Versuche haben nämlich ergeben, daß die intravenöse Injektion einer alkalischen Salvarsanlösung in der Dosis von 0,015 g pro kg zum vollständigen Verschwinden der Spirochäten aus dem Schanker des Kaninchenskrotums erst am 6. Tage führt. Bei einer Dosis von 0,025 g bewirkt sie die Sterilisierung des Schankers am 5. Tage, bei einer Dosis von 0,04 g am 4. Tage. Nach der Injektion von 0,06 g pro kg wurden im Schanker noch einige unbewegliche Spirochäten beobachtet. Die sofort sterilisierende Dosis von Salvarsan in alkalischer Lösung ist demnach für den angewandten Stamm etwas größer als 0,06 pro kg, die kurative Dosis ist aber 0,015. Castelli gelangte also bei seinen Versuchen mit Salvarsan zu einem etwas ungünstigeren Resultat als Hata. Castelli schreibt diesen Unterschied zwischen seinen und Hatas Resultaten der Steigerung der Virulenz des Spirochätenstammes zu, welcher im Speyer-Haus immerwährend von Kaninchen zu Kaninchen fortgezüchtet wurde und in seiner Virulenz erheblich zugenommen hat. Es dürfte aber dabei noch ein anderer Grund eine wichtige Rolle gespielt haben. Das Salvarsan wurde nämlich durch die inzwischen verfeinerte Darstellungstechnik nicht unbedeutend gereinigt, d. h. von der Arsenoxydverbindung befreit, welche giftiger, aber zugleich wirksamer als die reine Arsenverbindung ist. In allererster Zeit, als das Präparat nur im Laboratorium gebraucht wurde und nicht in der Praxis zur Anwendung kam, war dasselbe offenbar nicht ganz frei von Arsenoxyd, wie dies jetzt der Fall ist. Wahrscheinlich hat sich aus diesem Grunde das Präparat in Hatas Heilversuchen wirksamer erwiesen, als das spätere reine Präparat.

Bei seinen Versuchen mit Neosalvarsan erhielt Castelli jedoch viel bessere Resultate. Hier schwankte die sterilisierende Dosis nämlich zwischen 0,03 und 0,04 g pro kg unter denselben Versuchsbedingungen. Dieses Resultat ist um so bemerkenswerter, als das neue Präparat nur $^2/_3$ Salvarsan enthält, so daß bei dieser neuen Anwendungsform die sofort sterilisierende Dosis des Dioxydiamidoarsenobenzols zwischen 0,02 und 0,027 variiert. Castelli zog daraus den Schluß, daß die heilende Wirkung des Neosalvarsans bei den syphilitischen Kaninchenschankern doppelt so groß ist, wie die des Salvarsans.

Ferner untersuchte Castelli (l. c. [10], [18]) Salvarsan und Neosalvarsan auf ihre Heilwirkung bei Frambösie, und zwar dienten ihm als Versuchsobjekte der durch subkutane Impfung am Kaninchenskrotum erzeugte Frambösieschanker und auch die durch intravenöse Injektion hervorgerufenen generalisierten Frambösieerkrankungen des Kaninchens. Er konnte die Frambösie mit einer viel kleineren Dosis (0,03 g pro kg) zur

Heilung bringen als die Syphilis. Von seinen Versuchen ist aber besonders hervorzuheben, daß gerade bei der generalisierten Frambösie des Kaninchens, trotzdem die Zahl der im Organismus vorhandenen Spirochäten viel größer ist, als bei Tieren mit einer einzigen Erscheinung am Skrotum (infolge einer Lokalinokulation), die Heildosis nicht größer ist, sondern sogar unter gewissen Gesichtspunkten als kleiner angesehen werden muß, als die zur Sterilisation des Primäraffektes nötige Dosis. Einen analogen Versuch hat er bei syphilitischen Kaninchen mit Salvarsan angestellt und kam zu demselben Resultat, daß nämlich die sterilisierende Dosis des Salvarsans bei generalisierter Syphilis kleiner war als diejenige beim Schanker. Diese relativ leichte Heilbarkeit der generalisierten Fälle schreibt Castelli mit Ehrlich einem stärker ausgesprochenen Ictus immunisatorius zu.

Außer diesen Spirochätenarten wurden im Speyer-Haus noch verschiedene Trypanosomenarten einem Heilversuch mit Salvarsan unterzogen. Obgleich diese Versuchsresultate bis jetzt noch nicht veröffentlicht sind, können wir aus einer Arbeit von Gonder[25]) doch ersehen, daß das Mittel auch gegen Trypanosomen eine starke Wirkung auszuüben scheint. So vermag z. B. 1 ccm der Salvarsanlösungen von $^1/_{1000}$ bis $^1/_{2000}$ mit Trypanosoma brucei infizierte 20 g schwere Mäuse zu sterilisieren.

Bei weiteren Versuchen konnte Castelli (l. c. [21]) feststellen, daß eine 2,5%ige Neosalvarsanlösung, in den Konjunktivalsack des Kaninchens eingeträufelt, weder lokale Reizerscheinungen, noch allgemeine Störungen hervorruft, und daß das Neosalvarsan, in dieser Weise dargereicht, eine Heilwirkung nicht nur auf die Keratitis, sondern auch auf die generalisierte Erkrankung der Syphilis und der Frambösie ausübt. Er konnte auch 1%ige Neosalvarsanlösungen in einer Menge von 0,0047 bis 0,0112 pro kg in den Lumbalsack des Kaninchens einführen, ohne irgendwelche Störungen gleich nach der Injektion oder an den darauf folgenden Tagen zu beobachten.

Bierbaum[26]) hat noch eine gewisse Heilwirkung des Salvarsans auf die mit Milzbrand infizierten Tiere festgestellt. Anderwärts hat man auch bei einer Reihe von verschiedenen anderen Krankheiten, wie Malaria, Brustseuche des Pferdes, Rotz, Rattenbißkrankheit usw., die Heilwirkung des Salvarsans experimentell und praktisch festgestellt. Es ist also nicht ausgeschlossen, daß durch weitere Versuche noch andere Erkrankungen als Indikationen für eine therapeutische Verwendung des Salvarsans erwiesen werden können.

[25]) Zeitschr. f. Immunitätsf., **XV**, 257, **1912** [*355*].
[26]) Deutsche med. Wochenschr., H. 43, **1912** [*296*].

### c) Wirkungsmechanismus des Salvarsans.

Was den Mechanismus der Salvarsanwirkung auf die Spirochäten anlangt, so hat schon Hata (l. c. [9]) den ersten Hinweis darauf erbracht, daß das Salvarsan von den Spirochäten verankert wird. Er hat das spirochätenhaltige Blut in vitro mit den Salvarsanlösungen verschiedener Konzentrationen gemischt und dann diese Mischungen, worin sich die Spirochäten noch lebhaft bewegten, den Mäusen eingespritzt. Die Mischungen konnten, je nach der Konzentration, keine oder nur eine verspätete Infektion hervorrufen. Die viel feineren und umfangreicheren Versuche Castellis klärten aber diese Verhältnisse noch viel deutlicher auf. Castelli (l. c. [20]) hat nämlich eine Aufschwemmung von Hühnerspirochäten resp. Rekurrensspirillen oder Trypanosomen in Hühner- resp. Pferdeserum mit gleichen Mengen von Neosalvarsanlösungen verschiedener Konzentration gemischt, nach 15 Minuten bei 37° durch wiederholtes Zentrifugieren und Waschen die Parasiten von der Salvarsanlösung befreit und diese Parasiten, die noch gut beweglich waren, den Tieren eingespritzt. Die auf diese Weise vorbehandelten Parasiten waren trotz ihrer aktiven Beweglichkeit nicht mehr imstande, bei den Tieren eine Infektion hervorzurufen. Es ist dies also der Beweis dafür, daß das Salvarsan die Parasiten in vitro zwar nicht direkt abtötet, sie aber doch so schädigt, daß sie nicht mehr vermehrungsfähig sind. Castelli hat auch vergleichende Versuche mit Atoxyl angestellt; hier fand jedoch keine Verankerung des Mittels an den Parasiten statt. Aus diesen Versuchen geht mithin hervor, daß die spirillizide und trypanozide Wirkung des Salvarsans auf einer direkten Verankerung des Medikamentes mittels Chemozeptoren der Parasiten begründet ist. Diese Verankerung findet nur bei den Präparaten statt, in denen Arsen dreiwertig ist, nicht dagegen bei solchen, in denen Arsen fünfwertig fungiert.

Zu ganz denselben Resultaten gelangte auch Gonder (l. c. [25]), wenn er auch eine etwas modifizierte Versuchsmethode anwandte. Er hat den Tieren zuerst eine Salvarsanlösung intravenös eingespritzt und nach kurzer Zeit das Serum von den behandelten Tieren entnommen. Dieses Serum mischte er mit einer Spirochätenaufschwemmung in vitro. Diese Mischung, welche nach einer bestimmten Zeit noch bewegliche Spirillen enthielt, wurde gesunden Tieren eingespritzt. Aus diesen Versuchen ergab sich, daß das Salvarsan, intravenös injiziert, also mit Blut stark verdünnt, noch imstande war, die Parasiten in vitro ihrer Vermehrungsfähigkeit zu berauben. Als Gonder aber weiter mit salvarsanfesten Spirochäten und arsenfesten Trypanosomen analoge Versuche anstellte, war das Salvarsan nicht mehr imstande, diese Parasiten in vitro zu verankern. Dies ist ein sicherer Beweis dafür, daß sowohl Trypanosomen

wie Spirochäten einen bestimmten Chemozeptor haben, welcher Salvarsan aufzunehmen befähigt ist.

### d) Salvarsanfeste Spirochätenstämme.

Die Spirochäten werden gegen das Salvarsan nicht so leicht fest, wie dies bei Trypanosomen der Fall ist. Hata hatte mit Versuchen, Rekurrens- und Hühnerspirochäten gegen Salvarsan zu festigen begonnen, ohne ein sicheres Resultat zu erzielen. Margulies (l. c. [14]) setzte die Versuche weiter fort und konnte einen nur relativ festen Hühnerspirochätenstamm erzielen, aber bei Rekurrensspirochäten kam sie auch nicht zu einem positiven Resultat. Schließlich gelang es Gonder[27]), nach langen und mühevollen Arbeiten einen salvarsanfesten Rekurrens- und Hühnerspirochätenstamm zu züchten. So ist auch hierdurch der Beweis erbracht, daß diese Spirochätenarten einen Chemozeptor haben, welcher durch Salvarsan leicht angegriffen wird, aber erst durch eine sehr lange Berührung mit diesem Mittel im Tierkörper an seiner Avidität abnimmt.

---

Wir haben hiermit den wichtigsten Teil der experimentellen Untersuchungen über die Salvarsanwirkung, welche in Ehrlichs Laboratorium bearbeitet wurden, zusammengefaßt, Wie alle komplizierten Fragen der Biologie nicht in kurzer Zeit aufgeklärt werden können, bleiben natürlich auch bei dem Salvarsanproblem noch viele Punkte für weitere Forschung übrig. Aber wir sehen aus dieser Schilderung, daß Ehrlichs systematische und ununterbrochene Forschung in viele wichtige Fragen der Salvarsanwirkung Schritt für Schritt Aufklärung gebracht hat. Die Bedeutung dieser seiner Forschung besteht auch darin, daß einerseits viele Schwierigkeiten bei der praktischen Anwendung des Salvarsans aus dem Wege geräumt werden konnten, andererseits die Aufmerksamkeit und das Interesse vieler Forscher für die experimentelle Chemotherapie erweckt wurden, so daß jetzt überall chemotherapeutische Versuche bei den verschiedensten Krankheiten vorgenommen werden und zum Teil schon zu Resultaten geführt haben, welche zu großen Hoffnungen für die Zukunft berechtigen. Diese indirekte Wirkung der Auffindung des Salvarsans, den fördernden Einfluß auf die wissenschaftliche Forschung schätzen wir ebenso hoch, wie den direkten Erfolg, die Heilung der Krankheiten. In diesem Sinne hoffen wir, daß Ehrlich noch recht lange Jahre fruchtbarer Arbeit beschert sein mögen, zum Segen der Wissenschaft und zum Heile der Menschheit.

---

[27]) Centralbl.. f. Bakt., **LXII**, 168, **1912** [*354*].

4.

# Die klinische Erprobung des Salvarsans.

Von

**J. Benario,**

Frankfurt a. M.

Wohl kaum hat ein in die Therapie eingeführtes Präparat in der medizinischen Welt eine solche Bewegung ausgelöst wie das Dioxydiamidoarsenobenzol, das Salvarsan. Es liegt dies z. T. an der nosologischen Stellung, welche der Krankheit, deren Bekämpfung es in erster Linie dienen sollte, der Syphilis, in der menschlichen Pathologie zukommt, z. T. an dem wissenschaftlichen Rang, den der Erfinder einnimmt, insbesondere aber an der Eigenart der klinischen Erprobung, mit der Ehrlich einen bisher ungewohnten Weg eingeschlagen hat. Gleich den auf die breiteste Basis gestellten und alle Gesichtspunkte berücksichtenden Tierexperimenten, die der klinischen Erprobung vorangingen, wurde auch diese in weitestem Maße ausgeführt. Die Motive und deren Notwendigkeit hat Ehrlich[1] [2]) mit folgenden Worten charakterisiert:

„Während man früher sich begnügt hat, neue Mittel an vereinzelten Kliniken an wenigen Fällen, die zuweilen nicht einmal die Hundert erreichten, probieren zu lassen, glaube ich, daß in Zukunft ein solcher Modus procedendi nicht mehr angängig ist, da sich vielfach gezeigt hat, daß unter diesen Umständen auch Arzneimittel in die allgemeine Praxis gelangen, die nachträglich bei der Erprobung im großen Schädlichkeiten und Mängel aufweisen, die sich in der Hand der wenigen erfahrenen Erprober nicht gezeigt haben. In dieser Beziehung dürfte es sich empfehlen, bei differenten Arzneimitteln, zumal denen der Arsenikreihe, eine ausgiebige Erprobung vorangehen zu lassen."

Auf diese Weise wurden an eine sehr große Anzahl von Autoren im Laufe relativ kurzer Zeit über 60000[3]) Dosen des Präparates zur klinischen

[1]) Abhandlungen über Salvarsan, Bd. **I**, 375, **1911** [*131*].

[2]) Münch. med. Wochenschr., H. 1, **1911** [*131*].

[3]) Wiener med. Wochenschr., H. 1, **1911** [*128*].

Erprobung ausgegeben. Während so auf der einen Seite eine überaus große Zahl von Krankheitsfällen behandelt werden konnte und ein möglichst großer Aktionsradius geschaffen wurde, liefen in der Hand Ehrlichs konzentrisch die Krankenberichte ein und gewährten, sorgfältig registriert und vergleichend betrachtet, einen genauen Überblick über Wirkung und Nebenwirkung des Präparates. Diese „konzentrische Erprobung" eines therapeutischen Mittels bildet ebenfalls ein Novum in der Pharmakologie und dürfte das Paradigma werden für andere, besonders differente Mittel. Maßgeblich für diese umfangreiche Vorerprobung waren nicht Erwägungen statistischer Art, sondern es war ausschließlich die Hoffnung, daß es auf diese Weise — und nur auf diese Weise — möglich sein kann, unangenehme Zufälle zu vermeiden." Wie richtig und wichtig für die Zukunft sich diese Voraussetzung erwies, zeigte bald eine Mitteilung aus der Prager Dermatologischen Klinik von Bohac und Sobotka, laut welcher bei drei Patienten nach intramuskulärer Salvarsanapplikation schwere Harnverhaltung, Eiweiß, Fehlen der Reflexe und sonstige spinale Störungen beobachtet wurden, aus denen auf die Toxizität des Salvarsans geschlossen und Parallelen mit dem Atoxyl gezogen wurden. Die Möglichkeit, die Behandlungsstellen[4]) anzufragen, die die gleiche Charge erhalten hatten wie die Prager Klinik, ergab dann die Aufklärung, daß bei keiner derselben ähnliche Beobachtungen gemacht worden waren, und auch andere Autoren konnten aus ihrem Material nichts über eine spinaltoxische Wirkung des Präparates berichten. Dadurch wurde mit an Gewißheit grenzender Wahrscheinlichkeit die Vermutung begründet, daß es sich bei den erwähnten Fällen der Prager Publikation um einen besonders einwirkenden Faktor gehandelt haben muß. Während zunächst wegen der Ähnlichkeit der Fälle an eine Einwirkung von Methylalkohol gedacht wurde, der zur Lösung des Salvarsans verwendet worden war, ergab dann später ein von Eitner publizierter Fall eine Aufklärung. Es war in diesem Fall Methylalkohol zur Herstellung der Injektionsflüssigkeit überhaupt nicht benutzt worden, und doch traten nach subkutaner Einverleibung von 0,5 g die gleichen Symptome — Harn- und Stuhlverhaltung, Fehlen der Reflexe — auf. Es stellte sich dann heraus, daß das zur Injektion benutzte Salvarsan aus zwei Röhrchen stammte, dessen eines 14 Tage, dessen anderes 3 Tage vorher geöffnet worden und wieder zugeschmolzen war. „Es liegt daher die Vermutung sehr nahe, daß diese Manipulation mit diesen ganz außergewöhnlichen, sonst bei keinem Patienten beobachteten Erscheinungen in Zusammenhang steht, indem man annimmt, daß entweder durch den Luftzutritt oder durch das Erhitzen beim Zuschmelzen

[4]) Wiener klin. Wochenschr., H. 31, **1910** [*115*].

der Röhrchen Zersetzung im Präparat und Bildung starker toxischer Substanzen bewirkt worden sein konnte." Tierversuche, die in diesem Sinne von Eitner unternommen worden waren, sprachen im Sinne dieser Anschauung.

Daß durch die Oxydation des Salvarsans zum Arsenoxyd in der Tat eine stärker toxisch wirkende Substanz entsteht, war schon vorher im Tierexperiment festgestellt worden, indem die dem Dioxydiamidoarsenobenzol bei der Darstellung vorangehende Stufe — das p-oxy-amidophenylarsenoxyd — bei den im Speyer-Haus angestellten Versuchen zwar eine außerordentlich starke spirillozide Fähigkeit entwickelte, aber — einer bei den Versuchen im Speyer-Haus konstatierten Gesetzmäßigkeit entsprechend — eine viel höhere Toxizität besaß, so daß es für die Behandlung der Syphilis und verwandter Spirillosen nicht direkt zur Verwendung gelangen kann.

Mit diesen experimentellen und unfreiwillig angestellten klinischen Toxizitätsversuchen standen im Einklang Erfahrungen, die früher bei der Erprobung des Arsenophenylglyzins zwar schon gemacht, aber erst später in diesem Sinne gedeutet worden waren. Bei der ersten Erprobung zeigten sich neben einer guten spezifischen Einwirkung auf die syphilitischen Prozesse in ca. 10% der Fälle nervöse Erscheinungen in Form von spastischen Phänomenen, insbesondere solchen der unteren Extremitäten. Trotz Herabsetzung der verwandten Dosen auf die Hälfte blieben die Erscheinungen nicht aus. Später wieder aufgenommene Versuche ergaben ein vollkommenes Fehlen der früher beobachteten nervösen Erscheinungen, und als alleinige Ursache der Differenz konnte und mußte nach Lage und Beurteilung der Dinge nur die Oxydation des Arsenophenylglyzins angenommen werden, da es zunächst offen abgegeben und benutzt wurde, während später nur Präparate benutzt wurden, die in Vakuumröhrchen aufbewahrt worden waren. Eine Oxydation des im Vakuumröhrchen eingeschmolzenen Salvarsans ist wohl ziemlich ausgeschlossen, vielleicht in seltenen Ausnahmen durch einen Haarriß usw. möglich. Viel leichter und häufiger war die Oxydationsmöglichkeit gegeben bei den Lösungen, sowohl den sauren, als auch den alkalischen; besonders die letzteren, die ja auch klinisch fast ausschließlich zur Verwendung kommen, fallen einer leichten Oxydation anheim. Wie die Toxizität mit dieser durch Luftaufnahme bedingten Oxydation wächst, zeigt die nachstehende Tabelle, die das Resultat einer auf Ehrlichs[5] [6] Anregung hin angestellten Versuchsreihe bildet:

[5] Abhandlungen über Salvarsan, Bd. **II**, 568, **1912** [*139*].
[6] Münch. med. Wochenschr., H. 47, **1911** [*138*].

Bei einem Salvarsanpräparat, von dem 1 ccm (pro 20 g Maus) einer Lösung von 1:180 die Dosis tolerata darstellt, stieg die Dosis letalis

nach 1½stündigem Stehen auf 1:200
„ 2 „ „ „ 1:250
„ 2½ „ „ „ über 1:275
„ 4 „ „ „ 1:300
„ 6 „ „ „ 1:400

Durch Kontrollversuche an mit Hydraldit versetzten Lösungen konnte einwandfrei festgestellt werden, daß es sich bei der Toxizitätserhöhung um Oxydationsvorgänge gehandelt hat.

Bewies schon die Aufhellung der Ursache dieser dem Salvarsan als solchem zur Last gelegten Toxizität die Nützlichkeit und Notwendigkeit einer Zentralstelle, die das Berichtsmaterial mit kritischer Sonde prüfte, so war dies noch mehr der Fall bei einer weit stärkeren Belastungsprobe, die das Salvarsan auszuhalten hatte, bei der Frage der Störungen von seiten der Sinnesnerven, die bei syphilitischen Patienten sich nach mehr oder minder langer Zeit nach Salvarsanapplikation zeigten, bei den von Ehrlich sogen. „Neurorezidiven". Von Finger und Rille, welche diese Affektionen zuerst in größerer Anzahl gesehen und beschrieben haben, wurden sie zunächst als eine rein toxische Wirkung des Salvarsans angesprochen und in Analogie gesetzt mit den toxisch-degenerativen Prozessen an den Sinnesorganen, wie sie beim Atoxyl und Arsacetin beobachtet worden waren. Nur die genaue Analyse jedes einzelnen dieser Fälle und ihre zusammenfassend statistische Vergleichung konnte hier eine Aufklärung bringen, ob die Anschauung von der neurotoxischen Wirkung des Salvarsans zu Recht besteht oder nicht. „Ein Grundprinzip der Erprobung ist, daß ein Schaden, der einem Mittel als solchem anhaftet, überall vollkommen gleichmäßig verteilt und so die vorkommende Schädigung proportional der Behandlungszahl sein muß"[7] [8]). Wenn sich manche Kliniken dabei als „Häufungsstellen" erweisen, so muß dem eine besondere Ursache zugrunde liegen, die aufzuklären notwendig ist. Die konzentrische Erprobung für diese Feststellungen erwies sich auch daher als außerordentlich wertvoll und gab Aufschluß über Wesen und Art der Neurorezidive. Es mußte eruiert werden, ob diese Nervenaffektionen etwas Salvarsanspezifisches sind, ob sie sich bei Syphilitikern in einem besonderen Stadium finden, ob sie mit einem bestimmten Behandlungsmodus im Zusammenhang stehen, und wie sie sich einer weiteren Therapie gegenüber verhalten.

Schon die kritische Betrachtung der ersten Fälle ergab nach dieser

[7]) Aus Theorie und Praxis der Chemotherapie, Leipzig **1911** [*134*].
[8]) Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. **50**, Beiheft, S. 94, **1911** [*132*].

Richtung wichtige Anhaltspunkte. Aus einem kleinen Bruchteil des eingegangenen Berichtsmaterials konnte ich[9]) zunächst 8 Krankengeschichten eruieren, in denen Fälle mit genau den gleichen Affektionen der Sinnesnerven (Acusticus, Oculomotorius) nach Quecksilbermedikation beschrieben waren. Damit war schon ein Hauptmoment der spezifisch toxischen Wirkung des Salvarsans widerlegt. Es konnte damals auch schon festgestellt werden, was später an einem größeren Material bestätigt werden konnte, daß es sich bei diesen Affektionen fast ausschließlich um Fälle aus der ersten Periode der Frühsyphilis, etwa vom 2.—8. Monat, handelte, einer Periode, in welcher bekanntlich der ganze Organismus von Spirochätenherden durchsetzt ist. Als weitere Tatsache konnte ferner an der kleinen Zahl der Fälle konstatiert werden, daß sie bei Patienten vorgekommen waren, die nur ein einziges Mal, meist mit kleinen Dosen und fast ausschließlich mit der damals vielfach gebräuchlichen, aber am wenigsten sicheren Emulsionsmethode behandelt worden waren.

Was aber am meisten für die syphilitische Natur der Neurorezidive sprach, war die Erfahrung, daß sie durch antisyphilitische Medikation, ja durch Salvarsan selbst, zur Besserung oder Heilung gebracht worden sind. Unter Berücksichtigung all dieser Momente hat dann Ehrlich[10]) seine Anschauung über die Neurorezidive dahin zusammengefaßt:

„Die beschriebenen, meist in Knochenkanäle eingeschlossene Hirnnerven betreffenden Störungen sind nicht toxischer Natur, sondern syphilitische Manifestationen. Sie rühren von vereinzelten, bei der Sterilisation der Hauptmasse übriggebliebenen Spirochäten her und kommen auch nach Hg-Behandlung vor. Die auffallenden klinischen Symptome verdanken sie nicht ihrer Ausdehnung, sondern ihrem anatomischen Sitz."

Die weitere Bearbeitung dieser Frage durch mich[11]) [12]) [13]) [14]) [15]) [16]) [17]) an einem umfangreicheren Material, das schließlich 194 Fälle nach Salvarsanbehandlung und 211 Fälle ohne jede Behandlung und nach Hg-Medikation umfaßte, bestätigte die Anschauungen Ehrlichs in vollem Maße (vgl. hierzu auch Benario, Über Neurorezidive usw., München, Lehmann, 1911). Insbesondere war von Wichtigkeit die Feststellung der Tatsache, daß die Behandlung mit kleinen, insuffizienten Dosen

[9]) Münch. med. Wochenschr., H. 1, **1911** [*263*].
[10]) Berl. klin. Wochenschr., H. 51, **1910** [*126*].
[11]) Münch. med. Wochenschr., H. 14, **1911** [*265*].
[12]) Berl. klin. Wochenschr., H. 26, **1911** [*267*].
[13]) Wiener med. Wochenschr., H. 9, **1912** *268*].
[14]) Ebenda, H. 11 **1912** [*269*].
[15]) Münch. med. Wochenschr., H. 40, **1912** [*270*].
[16]) Zeitschr. f. Chemotherap. usw., Referate, **I**, H. 1; **1911** [*266*].
[17]) Zeitschr. f. Nervenheilk., **XLIII**, **1912** [*271*].

die Entstehung der Neurorezidive begünstigte, zumal wenn sie in der Form der neutralen Emulsion appliziert worden waren, wie dies in einer großen Mehrzahl der Injektionen der Fall gewesen ist. Es konnte weiter konstatiert werden, daß 94% der Neurorezidive dem frischen Sekundärstadium der Syphilis entstammten. Diese Feststellungen gaben einerseits eine Stütze für die Anschauungen, die von Ehrlich über die Natur der Neurorezidive formuliert waren, andererseits waren sie von Bedeutung für das praktische Vorgehen in der Behandlung der Sekundärperiode der Lues, besonders ihrer Frühperiode. In der Tat hat sich dann im Laufe der Zeit, als die von Ehrlich postulierte Forderung der intensivsten Behandlung der Frühperiode durchgeführt wurde, eine progressive Verminderung und ein vollständiges Verschwinden der Neurorezidive gezeigt, wie denn auch schon diejenigen Autoren, die von Anfang an eine intensive Salvarsanbehandlung oder eine kombinierte Salvarsan-Hg-Medikation der Lues durchgeführt hatten, eine sehr geringe Anzahl von Neurorezidiven beobachtet haben. Heute ist die Lehre von der syphilidogenen Natur der Neurorezidive von fast allen Autoren akzeptiert, die wenigen dissentierenden Stimmen stützen sich zum Teil auf die schon anfangs widerlegten Erfahrungen, z. T. auf die Anschauung, daß das Salvarsan einen locus minoris resistentiae schaffe, der die Ansiedlung syphilitischer Affektionen begünstige. Abgesehen davon, daß durch experimentelle Untersuchungen nachgewiesen wurde, daß gerade von der nervösen Substanz das Salvarsan nicht oder nur in minimalen Spuren verankert wird, daß syphilitische Erkrankungen des Zentralnervensystems durch Salvarsan zur Ausheilung kommen, ohne daß auf diesem affizierten Terrain der Boden für spätere Rezidive geschaffen worden wäre, spricht auch gegen diese Auffassung der vollkommene Parallelismus in der Häufigkeit der Erkrankung der einzelnen Hirnnerven unter Salvarsan- und Quecksilberbehandlung. Es folgt wiederum daraus, daß die anatomischen Prädilektionsstellen für die Etablierung der syphilitischen Prozesse das ausschlaggebende Moment sind und nicht das Medikament.

Neben diesen Feststellungen in klinischer Richtung erwies sich aber für die Technik der Salvarsaninjektionen selbst die Durchführung der konzentrischen Erprobung als sehr wertvoll.

Bekanntlich hat Alt, der das Salvarsan zum erstenmal am Menschen erprobte, das Präparat in alkalischer Lösung intraglutäal einverleibt, und in sorgfältigen Arbeiten waren von ihm und seinen Mitarbeitern die Wirkungsweise, die Ausscheidungsverhältnisse usw. studiert worden. Von der Einverleibung saurer Lösung hat er alsbald Abstand genommen, „weil sie anscheinend nicht ungiftig war und schon in geringer Dosis die Herztätigkeit ungünstig beeinflußte“.

Schreiber, der an frisch syphilitischen Patienten zuerst die Wirkung des Salvarsans erprobte, wandte erstmalig bei diesen Affektionen die intravenöse Injektion an, während Iversen in der gleichen Zeit bei Rekurrenskranken diese Methode zur Anwendung brachte. Die Schmerzhaftigkeit der Injektionsstellen, welche auf die intramuskuläre Einspritzung der sauren und alkalischen Lösung folgte, veranlaßte Wechselmann, das Salvarsan in einer neutralen Emulsion zu applizieren, die eine Zeitlang dann auch das Feld beherrschte. Aber abgesehen davon, daß auch sie nicht schmerzfrei war, zeigte sich bald ein großer Übelstand, der an die Natur der Emulsion gebunden war. Die momentane Einwirkung auf die syphilitischen Prozesse war zwar eine günstige, aber quoad Dauerheilung ließ sie sehr zu wünschen übrig, und — wie schon erwähnt — wurden die meisten Neurorezidive der ersten Periode nach der Verwendung der neutralen Emulsion beobachtet, aber auch ein gehäuftes Auftreten anderweitiger Rezidive wurde gerade unter dieser Applikationsweise konstatiert. Die einlaufenden Berichte ermöglichten eine baldige Orientierung über diese Tatsache, und so wurde dann von Ehrlich als die zweckmäßigste Methode die intravenöse Injektion empfohlen, nachdem gleichzeitig wieder die von verschiedenen Autoren (Weintraud, A. Neißer u. a. m.) eingegangenen Nachrichten die Vorteile derselben bestätigt hatten und die Methode selbst nicht die Schwierigkeiten darbot, als daß sie nicht allgemein sich hätte einbürgern können. Veranlaßt durch einen Todesfall, der bei einem Patienten mit sehr schweren degenerativen Hirnaffektionen nach einer intravenösen Injektion einer konzentrierten sauren Lösung (0,4:15 ccm) eingetreten war, auf Grund dessen die Autoren von der Injektion in die Blutbahn abraten zu müssen geglaubt haben, hat Ehrlich[18]) selbst die Bedenken gegenüber den intravenösen Injektionen unter Innehaltung streng präzisierter Indikationsstellung eben an Hand des zur Verfügung stehenden Materials zerstreuen können, „und auch gerade hier erwies sich die konzentrische Art der Erprobung im weiteren Verlauf als besonders wichtig".

„Während im allgemeinen die Nebenerscheinungen bei der intravenösen Injektion keinerlei bedrohliche gewesen sind, zeigte sich später, als das Präparat in die Großpraxis eingeführt wurde, daß an einzelnen Stellen schwere Folgeerscheinungen an die Injektion sich anschlossen; hohes Fieber, starke Diarrhöen, längeres Krankheitsgefühl bei den Patienten. Der nächste Gedanke bei der Erprobung war, daß es sich um ein verdorbenes Präparat gehandelt haben müsse. Re vera war das aber nicht der Fall, da bei der Herstellung und dem Vertriebe des Präparates selbstverständlich mit der peinlichsten Sorgfalt verfahren wird und jede Operationscharge der Fabrik im

[18]) Münch. med. Wochenschr., H. 35, **1910** [*116*].

Speyer-Haus biologisch geprüft wird. Sicherheitshalber ließ ich mir aber von allen Stellen, wo diese Erscheinungen aufgetreten waren, einige Röhrchen derselben Operationsnummer einsenden, um nochmals eine genaue Prüfung vornehmen zu können. In allen derartigen Fällen war das Präparat tadellos."

Es mußte also nach anderen ursächlichen Momenten gesucht werden, und diese fanden sich in dem durch das Verdienst von Wechselmann festgestellten „Wasserfehler". Dieser Autor wies nach, daß die einer intravenösen Injektion folgenden Nebenerscheinungen nicht durch das Salvarsan an sich bedingt sind, sondern mit dem Bakteriengehalt des destillierten Wassers zusammenhängen müssen, das zu den Lösungen verwandt wurde. Durch Verwendung frisch destillierten Wassers konnten die Nebenerscheinungen so gut wie vollkommen vermieden werden. Allerdings ist dabei das Stadium der Syphilis von Bedeutung. Patienten mit reichlichen Spirochäten, also solche der ersten und der zweiten Periode reagieren mit Spirochätenzerfall und damit auch mit Fieber usw. Ehrlich (l. c. [5]) hat selbst hervorgehoben, daß die Feststellung dieser Tatsache eine der größten Überraschungen war, die ihm die Periode der Salvarsanbehandlung gebracht hat. Für die Verifizierung dieser Beobachtung erwies sich auch wieder die konzentrische Erprobung als sehr wertvoll, denn sie klärte eine Reihe von Fällen auf, über die von verschiedenen Autoren berichtet worden war, und die sich dadurch charakterisierten, daß sie am gleichen Tage bei einer Gruppe von Patienten, die den verschiedensten Stadien der Syphilis angehörten, auftraten, gleich wie ein Blitzstrahl aus heiterem Himmel, d. h. in eine große Reihe reaktionslos verlaufener Injektionen hinein. Die naheliegende Vermutung, daß es sich um eine verdorbene zersetzte Operationsnummer hätte handeln können, wurde durch den schon erwähnten Nachweis der einwandfreien Beschaffenheit durch die Nachprüfung widerlegt. Vielmehr bestätigte der Wechsel im Bezug des zu den Lösungen verwandten Wassers und das damit verknüpfte Sistieren der bis zu einer außerordentlichen Höhe sich gesteigerten Nebenerscheinungen die Wichtigkeit eines einwandfreien destillierten Wassers. Experimentelle Versuche im Speyer-Haus von Yakimoff und Kohl-Yakimoff[19])[20]) ergaben, daß bei trypanosomenkranken Tieren die Toxizität des Salvarsans um das 10—12fache erhöht wurde, wenn gleichzeitig eine geringe Menge abgetöteter Bakterienkulturen den Tieren injiziert wurde. Die Erklärung für diese Erscheinung gab Ehrlich (l. c. [5]) dahin, „daß unter dem Einfluß der Bakterienleichen die Körperzellen eine Erhöhung ihrer Arsenavidität erleiden, daß sie mehr vom Arsenikale aufnehmen oder vielleicht dasselbe intensiver spalten, und

[19]) Münch. med. Wochenschr., H. 49, **1911** [*606*].
[20]) Ebenda, H. 3, **1912** [*607*].

daß andererseits durch die erhöhte Organotropie die Spirochäten weniger Salvarsan bekommen als sonst, infolgedessen von dem Mittel nicht so scharf getroffen werden." Wird so auf der einen Seite der Sterilisationsvorgang ungünstig beeinflußt, so kann auch eine Schädigung des Gesamtorganismus auftreten, dessen Zellen alteriert und für spätere Salvarsaninjektionen überempfindlich gemacht werden. Die Ausschaltung des Wasserfehlers war also die Vorbedingung und die Grundlage für eine intensive und multiple Behandlung. Diese konnte sich dann auch immer mehr etablieren, nachdem sich die Mehrzahl der Autoren, wenn auch anfangs nur mit Zweifeln, von der Richtigkeit des „Wasserfehlers" überzeugt hatte. Statistiken, wie solche von Almkvist, Schönberger u. a. m. vorliegen, beweisen deutlich die Differenz der Nebenerscheinungen zwischen der Periode, in welcher auf ein sorgfältig frisch destilliertes Wasser noch nicht geachtet wurde, und der, in welcher dies geschah. Trotz der Bestreitung der Wichtigkeit dieses Faktors von mancher Seite bildet heute die Verwendung frisch destillierten Wassers eine prima conditio einer rationellen Salvarsanbehandlung.

Ebenso wie für die bisher erwähnten Punkte war die konzentrische Erprobung für die Aufhellung der Todesfälle von größter Bedeutung. Der erste Todesfall, der zur Kenntnis gelangt war, betraf eine Patientin mit einer gummösen Laryngitis, die eine intramuskuläre Injektion saurer Lösung spät nachmittags erhalten hatte und des anderen Morgens tot im Bette aufgefunden wurde. Ehrlich nahm als vermutliche Todesursache eine Reflex-Shockwirkung an, die durch die große Schmerzhaftigkeit der sauren Lösung ausgelöst worden war. Von der Verwendung saurer Lösungen wurde daraufhin im allgemeinen Abstand genommen.

Die Sektion dieses Falles ergab eine Hypoplasie des Herzens, und Affektionen des Herzens wurden dann noch bei einzelnen anderen Todesfällen in der ersten Epoche beobachtet, so z. B. bei dem schon erwähnten Fall, der die saure intravenöse Injektion erhalten hatte, bei einem weiteren Fall, der schon klinische Zeichen einer Herzerkrankung darbot, und bei dem autoptisch schwerste Veränderungen des Herzmuskels und der Aorta festgestellt wurden. Bei einer anderen kleinen Gruppe von Todesfällen — von Paralytikern abgesehen — wurden mehr oder minder schwere Alterationen des Zentralnervensystems gefunden. Von prinzipieller Bedeutung in dieser Beziehung ist der von Westphal späterhin publizierte Fall von Tabes mit Bulbärerscheinungen, der die Genese mancher Todesfälle aufzuklären imstande war.

Durch die vergleichende Betrachtung dieser ersten Todesfälle war es nun möglich, einige Gruppen von Fällen herauszuheben, die zur Vermeidung von fatalen Ausgängen von der Salvarsanbehandlung auszu-

schließen oder ihr nur unter ganz besonderen Kautelen zu unterziehen waren. Schon in seiner ersten Publikation hat Ehrlich[21]), vgl. auch [22]), diese Kategorieen aufgestellt und Patienten mit ausgedehnten Degenerationen des Zentralnervensystems — Paralyse, Tabes, Herzaffektionen, Angina pectoris —, Aneurysmen usw. unter sie subsumiert. Im Laufe der Zeit, besonders unter der Änderung der Technik durch den Übergang zur intravenösen Injektion, konnten die Grenzen für diese Kontraindikationen zum Teil erweitert werden, zum Teil mußten sie aber noch enger gezogen werden; wie z. B. für die oftmals nur latenten Hirnaffektionen im frühen Sekundärstadium; die kontraindizierten Fälle sind aber in ihrem Kern die gleichen geblieben. Das ursächliche Moment, dessen Bedeutung für die Entstehung vieler Erscheinungen sich in der Zukunft immer mehr herausgestellt hat, war von Ehrlich[23]) [24]) schon bald erkannt worden, nämlich die Bedeutung der „Herxheimerschen Reaktion". „Man muß zunächst berücksichtigen, daß unter dem Einfluß der medikamentösen Behandlung entzündliche Reaktionen in den syphilitischen Geweben entstehen können. An der Haut sind solche als „Herxheimersche Reaktion" allgemein bekannt; es handelt sich aber hier um Vorgänge, die durch die untergeordnete Dignität des Sitzes der Reaktion nicht mit einer besonderen Gefahr verbunden sind. Ganz anders müssen aber die Folgen sein, wenn sich die entzündliche Reaktion an bedeutungsvollen „Stellen des Nervensystems" abspielt." Die Grundlage für diese Anschauung gab die erstmalige Beobachtung bei Störungen von seiten des Acusticus, die unmittelbar an die Injektion von Salvarsan aufgetreten waren und sich spontan wieder nach kurzer Zeit zurückbildeten. Die ersten Fälle dieser Art wurden auf der Wiener Klinik beobachtet und von Urbantschitsch in gleichem Sinne wie von Ehrlich gedeutet. Späterhin wurden dann noch Fälle an anderen Sinnesnerven beobachtet (Facialis, Oculomotorius). Von größter Bedeutung wurde aber der schon erwähnte Fall von Westphal, bei dem sich bei der Sektion neben den alten tabischen Degenerationserscheinungen ein aktiver meningitischer Prozeß an der Austrittsstelle des Phrenicus fand, der auf die Injektion mit einer Herxheimerschen Reaktion antwortete und, da diese ein lebenswichtiges Organ betraf, den Tod herbeiführte, bevor die Gelegenheit zur Rückbildung gegeben war.

Mit der in neuerer Zeit wieder und bedeutungsvoll in den Vordergrund getretenen Erkenntnis, daß schon im frühen Sekundärstadium das nervöse

[21]) „Chemotherapie der Spirillosen", S. 114, Berlin **1910** [*125*].
[22]) Stuttgart **1911** [*135*].
[23]) Zeitschr. f. Chemoth., **1**, 1, **1912** [*145*].
[24]) Deutsche Zeitschr. f. Nervenheilk., **XLIII, 1912** [*144*].

Zentralorgan von Spirochäten befallen ist, gewann die Herxheimersche Reaktion eine erhöhte Wichtigkeit für die Pathogenese mancher klinischer Erscheinungen von seiten des Zentralnervensystems und auch für die Todesfälle, die besonders nach intravenösen Injektionen späterhin vorgekommen sind, und bei denen Symptome von seiten des Hirns die charakteristischen klinischen Merkmale waren. Freilich darf man den Begriff „Herxheimersche Reaktion" insbesondere in Bezug auf das zeitliche Auftreten nicht so eng, fassen wie man das gewöhnlich für ihr Erscheinen auf den äußeren Bedeckungen tut. Die anatomisch-histologische Verschiedenheit der Nervensubstanz von der Haut und Schleimhaut, die geringe Blutzufuhr zu der ersteren, die Verschiedenheit des Sitzes des pathologischen Prozesses bedingen auch Differenzen im zeitlichen Auftreten, vielleicht auch solche qualitativer Art. Als Ursachen einer Verstärkung der Wassermann-Reaktion, einer „réaction renforcée" hat Ehrlich (l. c. [23]) schon angesehen: 1. den Wasserfehler und die dadurch bedingte Infarcierung der Herde mit Bakterienleichen, 2. traumatische Einflüsse (lange Reisen, Überanstrengung, Tanzen, Reiten), Exzesse; 3. konstitutionelle Ursachen: verringerte Ausscheidung des Salvarsans bei Nephritis, Erschöpfungszustände des Körpers, Status nervosus, Bestehen anderer Infektionen; 4. fehlerhafte Präparation der Lösungen, Bildung von Arsenoxyden; 5. die wichtige Rolle des Gehaltes der Herde an Spirillen; je spirillenreicher dieselben sind, desto intensiver wird die primäre Reaktion ausfallen; 6. als weiteres wichtiges Moment nach allgemeinen Erfahrungen die Höhe der angewandten Salvarsandosis.

Die klinischen Beobachtungen haben die Richtigkeit dieser Grundlegungen bestätigt und erweitert. So hat es sich gezeigt, daß Schädeltraumen das Auftreten von Hirnerscheinungen nach Salvarsaninjektion begünstigen, daß in der Kategorie der konstitutionellen Ursachen der Status lymphaticus eine Rolle spielen kann; daß im Zustand der Gravidität die Ausscheidung vermindert sein kann[25]).

Für das zeitliche Auftreten der Herxheimerschen Reaktion in dem nervösen Zentralorgan gab Ehrlich auf dem Londoner Kongreß 1913[26]) die entsprechende Erklärung, indem er sich auf Erfahrungen stützte, die bei den Neurorezidiven gemacht worden sind. Es wurde nämlich verschiedentlich beobachtet, daß die mit Recht als Herxheimersche Reaktion in den Sinnesnerven aufgefaßten Erscheinungen nicht nur nach Stunden, sondern nach 1—2—3 Tagen sich manifestiert hatten. Ehrlich erblickte die Ursache dafür in der Topographie der syphilitischen Herde. Wenn die Meningitis oder meningeale Reizung sich bis in die

[25]) Gesammelte Abhandl. über Salvarsan, **III**, 545, **1913** [*147*].

[26]) 17. Internat. med. Kongr., London **1913** [*150*, *151*].

Knochenkanäle hinein erstreckt, durch welche die Nerven verlaufen, so wird der durch die Herxheimersche Reaktion bedingte Schwellungszustand und Druck viel früher — alsbald nach der Injektion — sich durch Funktionsstörungen äußern, als wenn der meningeale Prozeß nur an der Austrittsstelle der Nerven, an der Basis etabliert ist. Der hier auftretende Schwellungszustand bedingt nicht unmittelbare Druckerscheinungen, da die Raumverhältnisse des Schädelinnern leichter einen Ausgleich gestatten. Treten nun nach einem Intervall von 2—3—4 Tagen doch Funktionsstörungen auf, so muß wohl diese Spätreaktion mit einer besonderen Empfindlichkeit des Zentralnervensystems in Zusammenhang gebracht werden. Es liegt wohl nahe, eine allmähliche Resorption der Spirochätenendotoxine zu supponieren, gleichsam ein primäres Inkubationsstadium, an das das floride Stadium sich dann anschließt. Der gleiche Mechanismus spielt sich auch wohl ab bei den Fällen, die auf Salvarsaninjektionen mit schweren Hirnerscheinungen reagierten. Statistische Vergleichungen haben gezeigt, daß dabei vorwiegend Patienten im frühen Sekundärstadium in Betracht kommen, in dem ja — wie schon erwähnt — die Invasion der Meningen und auch des Gehirns durch Spirochäten eine sehr häufige und ausgebreitete sein kann.

Fälle aus späteren Stadien, die diesem Reaktionssturm erlagen, zeigten meist die Residuen einer früheren Hirnaffektion, neben Erscheinungen neueren oder neuesten Datums. Besonders instruktiv in dieser Beziehung sind drei von Jacob genau untersuchte Fälle. In zweien derselben handelte es sich um Syphilis älteren Datums, in denen anatomisch neben ausgedehnten regressiven Veränderungen sich auch solche ausgesprochen progressiven Charakters fanden. Der dritte Fall entspricht dem Typus der in der Literatur beschriebenen Fälle von Encephalitis haemorrhagica. Es handelte sich um einen jungen Menschen von 23 Jahren, der seit einem Monat an einem Primäraffekt litt und mit einer kombinierten Hg-Salvarsankur behandelt worden war. Auf die erste intravenöse Salvarsandosis folgte kurzes Erbrechen und Temperaturanstieg, alles nur vorübergehend. Nach der 2. Salvarsaninjektion kam es nach dreitägigem Intervall zu stürmischen Reizerscheinungen mit wiederholten epileptiformen Krämpfen und Coma, Symptome, denen der Patient am 6. Tage nach der Injektion erlag.

Die Sektion ergab Weichheit und Saftreichtum des Gehirns neben kleinen Hämorrhagien in den Meningen; mikroskopisch wurde Hyperämie und Ödem mit zahlreichen über das ganze Gehirn verbreiteten und auch in der Rinde lokalisierten Blutaustritten gefunden; daneben auch an meist zirkumskripten Stellen in der grauen und weißen Substanz Quellung der histologischen Strukturen mit akutem Zerfall des nervösen Paren-

chyms, also Zeichen einer lokalisierten Hirnschwellung, ein Krankheitsbild, auf das ich erstmalig unter Anlehnung an die von Plötzl und Schüller beobachteten Fälle hingewiesen hatte. Neben diesen Zeichen der Hirnschwellung fanden sich noch deutlich entzündlich-infiltrative Veränderungen in der Pia und der Rinde. Auf Grund des histologischen Befundes kommt Jacob zu der Schlußfolgerung, daß das pathologisch-histologische Bild ohne Zwang als das Spiegelbild einer Herxheimerschen Reaktion anzusehen ist, und daß diese, d. h. die cerebralen syphilitischen Herde und ihre Reaktionen im Gewebe und nicht das Salvarsan diese und andere pathologisch gleichartige Todesfälle verursacht haben. Diese Feststellungen sind von größter Tragweite für die Salvarsantherapie, indem sie es zum Gebot machen, diejenigen Fälle, bei denen der Verdacht eines Auftretens einer stärkeren cerebralen Herxheimerschen Reaktion nur einigermaßen begründet ist, mit größter Vorsicht und mit kleinsten Initialdosen zu behandeln.

So sehen wir denn heute die Erwartungen und Hoffnungen, die Ehrlich in der Bekämpfung der Syphilis an das Salvarsan geknüpft hat, erfüllt. Ernste und angestrengte Arbeit haben die Einwendungen, die dem Salvarsan zur Last gelegt worden waren, zerstreut und dem Salvarsan die Rolle eines der mächtigsten Kampfmittel gegen diese verheerende Seuche zuerkannt. Allerorten mehren sich die Berichte über abortive Behandlung des primären Stadiums dieser Krankheit, und die Aussicht, dadurch dem Endstadium, der Paralyse und Tabes vorzubeugen, gewinnt fest begründeten Boden. „Die Pfosten sind in den Grund getrieben, nun gilt es zu bauen das fertige Haus", mit diesem Appell übergab vor 3 Jahren Ehrlich[27]) sein Mittel der Medizin und den Medizinern. Der Bau ist in diesem Zeitraum vollendet worden, soweit es eine Vollendung durch Menschenhände und Menschengeist gibt.

## Anhang.

### Übersicht über die klinische Erprobung des Salvarsans beim Menschen.

A. Bakterienkrankheiten:

| | Erfolg |
|---|---|
| 1. Milzbrand | positiv |
| 2. Pest | positiv |
| 3. Rotz | positiv |
| 4. Rhinosklerom | wechselnd |

[27]) Deutsche med. Wochenschr., H. 41, **1910** [*121*].

| | |
|---|---|
| 5. Sepsis | wechselnd, meist negativ |
| 6. Tuberkulose | wechselnd |
| 7. Lepra | wechselnd, |
| 8. Gonorrhöe | manchmal positiv |
| 9. Ulc. molle | vereinzelt positiv |

B. Spirochätenerkrankungen:

| | |
|---|---|
| 1. Frambösie | positiv |
| 2. Recurrens, Tick fever | positiv |
| 3. Ulcus tropicum | positiv |
| 4. Angina Vincenti | positiv |
| 5. Noma | positiv |

C. Chlamydozoenkrankheiten:

| | |
|---|---|
| 1. Vaccine | wechselnd, meist negativ |
| 2. Variola | wechselnd |
| 3. Trachom | negativ |
| 4. Lyssa | negativ |

D. Krankheiten mit unbekannten Erregern:

| | |
|---|---|
| 1. Masern | negativ |
| 2. Scharlach | meist positiv |
| 3. Typhus exanthematicus | manchmal positiv |
| 4. Gelbfieber | manchmal positiv |
| 5. Rattenbißkrankheit | positiv |
| 6. Granuloma pudend. | positiv |
| 7. Ulcera de Bahura | positiv |
| 8. Verruca peruviana | positiv |
| 9. Sympathische Ophthalmie | positiv |

E. Protozoenkrankheiten:

| | |
|---|---|
| 1. Malaria tertiana | positiv |
| 2. Trypanosomiasis | wechselnd |
| 3. Leishmaniosis | |
| a) Kala-Azar; Splenomegalia infant. | positiv |
| b) Orientbeule | positiv |
| 4. Amöbendysenterie | manchmal positiv |

F. Wurmerkrankungen:

| | Erfolg |
|---|---|
| 1. Filaria | negativ |
| 2. Bilharzia | negativ |
| 3. Trichinose | negativ |

G. Erkrankungen durch Hefen:

| | |
|---|---|
| 1. Blastomykose | positiv |
| 2. Lymphangitis epizootica | positiv |

H. Stoffwechsel- und Blutkrankheiten:

| | |
|---|---|
| 1. Pellagra | teilweise positiv |
| 2. Skorbut | positiv |
| 3. Leukämie | negativ |
| 4. Perniciöse Anämie | meist positiv |
| 5. Bantische Krankheit | positiv |

J. Hautkrankheiten:

| | |
|---|---|
| 1. Exsudative Dermatosen: | |
| a) Pemphigus vulg. | meist negativ |
| b) Pemphigus foliaceus | positiv |
| c) Pemphigus vegetans | positiv |
| d) Dermat. herpetiformis | positiv |
| 2. Schuppende Hautkrankheiten: | |
| a) Psoriasis | häufig positiv |
| b) Pityriasis | positiv |
| 3. Sklerodermie | negativ |
| 4. Ichthyosis | negativ |
| 5. Lupus, Tuberkulide | häufig positiv |
| 6. Aktinomykose | positiv |
| 7. Lichen | |
| a) Lichen ruber planus | häufig positiv |
| b) Lichen scrofulos. | positiv |

K. Geschwülste und Neubildungen:

| | |
|---|---|
| 1. Lymphom | oft positiv |
| 2. Melanom | manchmal positiv |
| 3. Karzinom | meist negativ |
| 4. Sarkoma hämorrh. Kaposi | positiv |
| 5. Mykosis fungoides | positiv |
| 6. Verruca juvenilis | positiv |

5.

# Salvarsan bei Tierkrankheiten.

Von

**K. Bierbaum,**

Frankfurt a. M.

Die experimentellen Untersuchungen Ehrlichs und seiner Schüler, durch welche die hervorragende spirillozide und trypanozide Eigenschaft des Salvarsans dargetan wurde, haben die Veranlassung dazu gegeben, das Salvarsan auch bei den entsprechenden Protozoenkrankheiten unserer Haustiere zur Anwendung zu bringen. Aber nicht allein bei den durch Spironemen und Trypanosomen bedingten Krankheiten, die in erster Linie zu berücksichtigen waren, ist das Salvarsan therapeutisch verwendet worden, sondern auch eine ganze Reihe anderer Krankheiten der Haustiere, die durch Bakterien hervorgerufen werden, oder deren Ätiologie noch nicht oder nur ungenügend geklärt scheint, ist versuchsweise oder systematisch mit Salvarsan behandelt worden. Wenn diese Versuche einer vorwiegend praktischen Erprobung des Salvarsans in der Tierheilkunde naturgemäß in der Hauptsache von anderer Seite ausgeführt werden mußten, so sind es doch die experimentellen Untersuchungen Ehrlichs gewesen, auf deren Basis die Anwendung des Salvarsans bei Tierkrankheiten überhaupt angängig erschien. Zum nicht geringen Teil verdanken überdies diese Versuche der Praxis unmittelbaren Anregungen Ehrlichs ihre Entstehung.

## I. Protozoenkrankheiten.

### a) Trypanosomiasen.

Wie Ehrlich und seine Mitarbeiter zeigen konnten, gelingt es leicht, Trypanosomeninfektionen der kleineren Versuchstiere des Laboratoriums durch Salvarsan noch im vorgeschrittenen Infektionsstadium dauernd zu heilen. Dagegen stößt die Heilung der Trypanosomiasen des Menschen

und der großen Haustiere in der Praxis häufig auf Schwierigkeiten. Ehrlich und Gonder[1]) führen dies einerseits darauf zurück, daß die bei den kleineren Laboratoriumstieren anwendbaren Dosen der Heilmittel im Vergleich zum menschlichen Organismus und Großtier erheblich größere sind. Andererseits verläuft die Trypanosomeninfektion bei Ratte und Maus hauptsächlich im Blute, während beim Menschen und Großtier auch die Organe, besonders das Nervensystem, von den Trypanosomen befallen werden. Im Blute sind begreiflicherweise die Parasiten therapeutisch viel leichter zu beeinflussen als in den Organen, in welche die Heilmittel nur schwer oder gar nicht eindringen, und in denen sie daher auch nicht immer ausreichend wirken können. So ist es erklärlich, daß auch die Angaben über die Wirkung des Salvarsans bei den Trypanosomenkrankheiten der Haustiere verschieden lauten. Während Zyp und das tierärztliche Laboratorium in Buitenzorg bei Behandlung der Surra mit Salvarsan keine Erfolge und Lafranchi bei experimenteller Infektion von Hunden mit Nagana nur eine geringe hemmende Wirkung sahen, hatten Favero gute Resultate bei experimenteller Infektion von Hunden mit Trypanosoma equiperdum und Breisinger bei künstlicher Infektion von Rindern mit Trypanosoma brucei zu verzeichnen. Zu gleich guten Ergebnissen kam Theiler bei der Behandlung von Rindern, die mit Trypanosoma cazalboui infiziert waren. Neuerdings berichtete auch Holmes über im allgemeinen günstige Erfolge bei Behandlung der Surra bei Pferden, Hunden und Kaninchen. Durch intravenöse Salvarsanbehandlung erzielte Mason bei einer Trypanosomenkrankheit unter ägyptischen Pferden vollkommene Heilung. Das bei den Pferden gefundene Trypanosoma hat mit dem bei der Trypanosomiasis der Dromedare (El Debab) vorhandenen größte Ähnlichkeit.

### b) Piroplasmosis und Leishmaniosis.

Ähnlich wie bei der menschlichen Malaria scheint das Salvarsan auch in Fällen von Tierpiroplasmose Wirkung zu haben. So haben es Levaditi und Nattan-Larrier bei experimenteller Hundepiroplasmose in allen Stadien der Erkrankung wirksam gefunden. Nach Injektion von 0,04 g pro 1 kg Körpergewicht verschwanden die Parasiten aus dem Blute, ebenso die Krankheitserscheinungen einschließlich der Hämaturie. Im wesentlichen negative Ergebnisse hatte dagegen Nawrozky. Bei einer durch Piroplasma gibsoni bedingten spontanen Hundepiroplasmose konnten Symons und Patton durch intramuskuläre

[1]) Handbuch der pathog. Mikroorganismen von Kolle-Wassermann, 2. Auflage, **III**, 337, Jena **1913** [*175*].

Einspritzung von Salvarsan die Parasiten zwar nicht stets gleich zum Schwinden bringen, doch wurde ihre Zahl stark vermindert. In den meisten Fällen wurde ein eklatanter Erfolg auf den Krankheitsverlauf erzielt, die Tiere genasen schnell. Dschunkowsky konnte bei Rinderpiroplasmose die Parasiten in kurzer Zeit durch Salvarsan (0,01 pro kg intravenös) zur Auflösung und zum Verschwinden bringen. Allerdings kam es durch die plötzliche Auflösung der Piroplasmen und das dadurch bedingte Freiwerden großer Mengen von Endotoxinen zu schweren Intoxikationserscheinungen, die zum Teil tödlich endigten. Bei experimenteller Hunde-Leishmaniosis beobachteten Nicolle und Conor das Verschwinden der Parasiten aus dem Hundekörper nach intramuskulärer Injektion von Salvarsan.

### c) Spironemaceenkrankheiten.

Wie Ehrlich und Hata[2]) grundlegend festgestellt haben, besitzt Salvarsan bei der experimentellen Hühnerspironemosis eine ganz hervorragende Heilwirkung, die in den Versuchen von Dschunkowsky bei experimenteller Gänsespironemosis und von Hauer ebenfalls evident zutage trat. Auch bei der praktischen Bekämpfung dieser Krankheiten zeigte sich das Salvarsan in Versuchen von Schaburow und von Marinescu als ausgezeichnetes Therapeutikum, mit dem die Sterilisatio magna, die Befreiung des Organismus von den Parasiten mit einem Schlage, gelingt.

## II. Bakterielle Krankheiten.

In zahlreichen Versuchen teils im Laboratorium, teils in der Praxis hat sich herausgestellt, daß das Salvarsan auch bei gewissen bakteriellen Infektionen eine Wirkung ausübt, eine Tatsache, die Ehrlich[3]) darauf zurückführt, daß „der Angelhaken, welcher das Spiculum des Salvarsans einzufangen imstande ist, offenbar in der Klasse der Parasiten eine weite Verbreitung haben muß".

Becker konnte einen Fall von Milzbrandsepsis beim Menschen, deren Prognose nach den bisherigen Erfahrungen absolut infaust war, durch einmalige Gabe von 0,6 g Salvarsan zur Heilung bringen. Diese Wirksamkeit des Salvarsans bei Milzbrandinfektionen konnte im Tierexperiment von Schuster, Bettmann und Laubenheimer, welch letztere, ebenso wie Mokrzecki, günstige Wirkung auch bei menschlichem Milzbrand sahen, ferner von Bierbaum[4]), Korschun und Isabolinsky

[2]) Die experimentelle Chemotherapie der Spirillosen, Berlin **1910** [*180*].

[3]) Soziale Kultur u. Volkswohlfahrt während der ersten 25 Regierungsjahre Kaiser Wilhelms II., S. 345, Berlin **1913** [*148*].

[4]) Deutsche med. Wochenschr., H. 43; **1912** [*296*].

bestätigt werden. Bierbaum (l. c. [4]) konnte außerdem zuerst feststellen, daß die kombinierte Anwendung von Salvarsan und spezifischem Serum im Tierexperiment sich besonders wirksam erwies, insofern ein heilender Einfluß dieser Kombinationsbehandlung noch mehrere Stunden nach erfolgter Infektion zu konstatieren war, zu einer Zeit, wo Serum oder Chemikale allein nicht mehr wirkten. Mit dieser Kombinationsbehandlung, der Chemoserotherapie, konnte Bierbaum (l. c. [4]) auch bei experimenteller Infektion von Mäusen mit Schweinerotlaufbazillen, bei der Salvarsan allein ebenfalls wirksam war, besonders gute Erfolge erzielen. Sie hat sich in Versuchen von Neufeld und Engwer, sowie späterhin von Boehncke[5]) bei experimenteller Pneumokokkeninfektion gleichfalls gut bewährt. Während Bierbaum die Wirksamkeit des Salvarsans gegen die Milzbrand- und Rotlaufinfektion in der Hauptsache auf die von Friedberger und Masuda, sowie von Boehncke[6])[7]) experimentell nachgewiesene Fähigkeit des Salvarsans, den Organismus zu verstärkter Produktion von Antikörpern anzuregen, zurückführte, muß nach neueren Versuchen von Roos, sowie von Neufeld und Schiemann angenommen werden, daß die Wirkung des Salvarsans auf die genannten Erreger auch eine direkte ist. Diese Autoren konnten nämlich nachweisen, daß Salvarsan in vitro ein ausgesprochenes, starkes Abtötungsvermögen auf Milzbrand- und Rotlaufbazillen ausübte, während andere Erreger, bei denen das Salvarsan sich auch im Tierversuch unwirksam erwies (Paratyphus-, Hühnercholera- und Friedländerbazillen, sowie Pneumokokken und Streptokokken), im Reagenzglase ebenfalls nicht oder nur ganz geringgradig beeinflußt wurden. Das Salvarsan wird also mit Neufeld und Schiemann als „inneres Desinfektionsmittel" für bestimmte Bakterien mit Recht angesprochen werden können.

Einen gewissen Einfluß des Salvarsans konnten eine Reihe russischer Autoren bei spontaner und experimenteller Infektion mit Rotzbazillen nachweisen. So sahen Blagodetelew, Neschkow und Gorjaeff eine auffällige Besserung des klinischen Befundes bei rotzkranken Pferden, ohne daß es jedoch zu einer völligen Ausheilung kam. Benewolensky, der über größere Versuchsreihen an Kaninchen, Katzen und Meerschweinchen verfügt und außerdem den Einfluß des Salvarsans auf Rotzbazillen in vitro prüfte, führt die Wirkung des Salvarsans zum Teil auf eine direkte chemische Wirkung des Präparates auf die Rotzbazillen, zum Teil auf die unter der Behandlung entstehenden Antikörper zurück. Auch Meschkow konnte eine abtötende Wirkung des Salvarsans auf Rotzbazillen in vitro

[5]) Münch. med. Wochenschr., H. 8; **1913** [*309*].
[6]) Berl. klin. Wochenschr., H. 25; **1912** [*306*].
[7]) Zeitschr. f. Chemotherapie, I. Teil, Originale, **I**, 136; **1912** [*307*].

feststellen. Demgegenüber hatte Mießner bei Versuchen an experimentell mit Rotz infizierten Meerschweinchen, Hunden und Pferden keinerlei Einfluß der Salvarsanbehandlung zu verzeichnen. Bei der septischen Pneumonie der Kälber, einer durch Bazillen aus der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie bedingten, teils akut, teils chronisch verlaufenden ansteckenden Lungenentzündung, hatte Steinhauß mit Salvarsan gute Heilerfolge. Dagegen sah Torgersen bei Schweineseuche keine Wirkung. Mit Neosalvarsan gelang es Rips, 6 Fälle von Druse, einer durch Streptokokken bedingten, unter den Symptomen eines ansteckenden fieberhaften Katarrhs der oberen Luftwege mit Anschwellung und Abszedierung der Lymphdrüsen verlaufenden Krankheit der Pferde, günstig zu beeinflussen. Da eine direkte Einwirkung des Salvarsans auf Streptokokken nach den Untersuchungen von Neufeld nicht anzunehmen ist, wird man Rips in der Ansicht zustimmen können, daß die Wirkung des Neosalvarsans hier eine indirekte, durch Vermehrung der bakteriotropen Immunkörper des Blutes bedingte, ist. Ein derartiger Einfluß des Salvarsans auf die Bakteriotropine bzw. Opsonine des Blutes ist ja von Strubell und von Boehncke (l. c. [6], [7]) experimentell nachgewiesen worden. Hervorragend bewährt hat sich das Salvarsan und Neosalvarsan in den Versuchen von Bridré, Nègre und Trouette, sowie Dorschprung-Zelizo und Houdemer bei Behandlung des sog. afrikanischen Rotzes der Pferde (Lymphangitis epizootica), der durch einen Hefepilz, den Cryptococcus farciminosus Rivolta, hervorgerufen wird.

### III. Krankheiten mit unbekannten oder unsicheren Erregern.

Es lag nahe, das Salvarsan auch bei solchen Tierkrankheiten, deren Ätiologie noch nicht oder nur ungenügend geklärt ist, versuchsweise zur Anwendung zu bringen. War doch die Möglichkeit, daß die eine oder andere dieser Krankheiten durch noch unbekannte Protozoen oder diesen nahestehende Organismen bedingt war, nicht ganz von der Hand zu weisen. Aber auch die bei den vorerwähnten bakteriellen Infektionen zutage getretene Aktionsbreite des Salvarsans mußte zur Anstellung solcher Versuche ermutigen. In der Tat sind auch bei einigen dieser Krankheiten zum Teil ganz auffällige Erfolge mit der Salvarsantherapie erzielt worden.

Bei Maul- und Klauenseuche konnten Mießner und Johann einen gewissen Einfluß des Salvarsans erkennen, wenn auch die geringe Zahl der Versuche ein sicheres Urteil noch nicht gestattete. Auch Stühmer sah bei einem Fall von bullöser Stomatitis beim Menschen, die als Maul- und Klauenseucheansteckung angesprochen wurde, auffällige Wirkung

des Salvarsans. Dagegen hatte in Versuchen von Panisset das Salvarsan keinerlei Wirkung. Torgersen wandte Salvarsan bei Hundestaupe an und empfiehlt weitere Erprobung. Bei Rinderpest, periodischer Augenentzündung, Rotlaufseuche (Staupe) und ansteckender Anämie der Pferde waren Erfolge nicht zu konstatieren. Dagegen konnten Rips, Krüger und Abendroth bei lymphatischer und myelogener Leukämie der Pferde völlige Heilungen schon durch einmalige Salvarsaninjektion erzielen. Ebenso zeigte sich in Versuchen von Narsky bei Geflügeldiphtherie und von Thum bei enzootischer Meningoencephalitis der Pferde, sowie von Dreisdörner bei Morbus maculosus das Salvarsan von Nutzen. Chronische Ekzeme, die jeder lokalen und inneren Behandlung getrotzt hatten, wurden nach intravenösen Salvarsaninfusionen in Versuchen von Matthies und von Rips schnell und dauernd geheilt. Sticker konnte transplantable Sarkomgeschwülste mit Metastasen in den benachbarten Lymphdrüsen bei einem Hund durch einmalige Salvarsaninjektion zum Verschwinden bringen. Während Tonin und Zalkindson in je einem Fall von menschlicher Lyssa eine gewisse Heilwirkung des Salvarsans beobachteten, konnten Neboljubow, v. Zumbusch (diese beiden auch bei menschlicher Lyssa), Isabolinsky, Iwanow, Marras und Mießner irgendeinen Einfluß des Salvarsans bei experimenteller Wut nicht nachweisen.

Die ausgedehnteste und erfolgreichste Anwendung in der Tierheilkunde hat das Salvarsan jedoch bei der unter dem Namen Brustseuche bekannten und gefürchteten seuchenhaften Lungen-Brustfellentzündung der Pferde gefunden. Seitdem Rips zuerst sich des Salvarsans bei der Behandlung dieser Krankheit bedient hatte, ist es in vielen hundert Fällen fast durchgängig mit den besten Ergebnissen angewendet worden, so daß es heute geradezu als ein Spezifikum gegen die Brustseuche gelten kann. Die besonders in der Armee, für deren Schlagfertigkeit die Brustseuche stets eine große Gefahr bildete, und die deshalb ein besonderes Interesse an einer einwandfreien Erprobung der Wirksamkeit des Salvarsans hatte, erhobenen Befunde lassen heute Zweifel an der Bedeutung und spezifischen Wirkung des Salvarsans nicht mehr aufkommen. Als wesentliche Vorteile der Salvarsanbehandlung der Brustseuche sind zu erwähnen: schnelle Entfieberung, Hebung des Appetits, dadurch bedingte Verhinderung des Rückgangs im Nährzustande, günstiger Einfluß auf Puls und Atmung, Koupieren bzw. schnelle Abheilung der bestehenden Lungenentzündung, Abkürzung des einzelnen Krankheitsverlaufes, schnelle Genesung und Wiedergebrauchsfähigkeit der Pferde.

Welchen Einfluß die Salvarsanbehandlung auf die Mortalität der Brustseuche ausübt, dafür liefern einige Zahlen aus den statistischen Jahres-Vete-

rinärberichten der preußischen Armee ein beredtes Zeugnis. Während in den Jahren 1909, 1910 und 1911 die Mortalität bei Brustseuche noch 5,01%, 4,09% bzw. 4,30% betrug, ist sie im Jahre 1912, d. h. mit Beginn einer etwas ausgedehnteren Anwendung des Salvarsans — von 1764 brustkranken Pferden wurden allerdings nur 580 behandelt — auf 2,66% zurückgegangen. Von 357 im ersten Vierteljahr 1913 in der preußischen Armee an Brustseuche erkrankten und mit Salvarsan behandelten Pferden ist nur eins, das gleichzeitig infolge eines Distanzrittes an schwerer Hämoglobinämie litt, gestorben.

Es scheint, daß das Salvarsan auch die Zahl der gefürchteten Nachkrankheiten der Brustseuche (Kehlkopfpfeifen, Sehnenscheidenentzündung, periodische Augenentzündung usw.), die im wesentlichen Produkte der Wirkung der im Verlauf der eigentlichen Erkrankung sich sekundär ansiedelnden Streptokokken sind, herabzudrücken bzw. ganz zu verhindern vermag, wofern nur die Anwendung rechtzeitig erfolgt. Das alte von Ehrlich immer wieder betonte therapeutische Axiom: „frapper fort et frapper vite", hat auch für die Salvarsantherapie der Brustseuche unbedingte Gültigkeit. Der Einwand, daß bei einer Behandlung am ersten Krankheitstage nicht genügend Antikörper gebildet sind oder werden, um eine dauernde Immunität des Pferdes gegen eine Wiedererkrankung gelegentlich neuer Seuchenausbrüche zu gewährleisten, trifft schwerlich zu. Die Antikörperbildung beginnt bereits in einem sehr frühen Krankheitsstadium, überdies vermögen auch die unter der Salvarsanbehandlung abgetöteten Erreger und ihre Endotoxine ausreichend Antikörper zu bilden, um dem Organismus eine dauernde Immunität zu verleihen. Wie grundlos diese Befürchtungen sind, ergibt sich daraus, daß bis heute noch kein Fall von Wiedererkrankung eines frühzeitig behandelten Pferdes bei einem späteren Seuchenausbruch bekannt geworden ist. Die Gefahr, daß man bei einer Behandlung am 3. Erkrankungstage, oder gar noch später, schon zu spät kommt, um die Wirkung und Nachwirkung der Begleitbakterien sicher auszuschalten, scheint demnach ungleich größer zu sein.

So vielseitig somit die Anwendung des Salvarsans bei Tierkrankheiten ist, so liegt doch der Schwerpunkt seiner praktischen Bedeutung für die Tierheilkunde in seiner hervorragenden und zuverlässigen Wirkung bei der Brustseuche. Hat doch die Einführung des Salvarsans in die Therapie der Brustseuche einen gründlichen Umschwung hervorgerufen. Während bis dahin der Therapeut, lediglich auf eine symptomatische Behandlung und hygienische Maßnahmen allgemeiner Natur angewiesen, den Ausbrüchen dieser Seuche nahezu wehrlos gegenüberstand, gelingt es heute fast mit Sicherheit, durch frühzeitige Salvarsananwendung die Krankheitsfälle zu koupieren, die Mortalität auf ein Minimum herabzusetzen und die erkrankten Pferde

frühzeitig und ohne Schaden wieder ihrer Bestimmung dienstbar zu machen. Daß hierdurch der wirtschaftliche Schaden, den die Brustseuche bereitet, erheblich herabgemindert wird, bedarf keiner weiteren Ausführung. Von welcher Bedeutung der Besitz eines so sicher wie das Salvarsan wirkenden Heilmittels gegen die Brustseuche aber auch für die Schlagfertigkeit der berittenen Truppen unserer Armee ist, mag hier nur angedeutet sein.

So zeigt sich auch auf dem Gebiete der Salvarsanwirkung bei Tierkrankheiten, welch bedeutsamen Fortschritt die praktische Heilkunde der von Ehrlich begründeten „Chemotherapie" verdankt, wie reiche und mannigfache Früchte der die Gesamtarbeit Ehrlichs beherrschende Gedanken getragen:

**„corpora non agunt nisi fixata".**

G.

# Bibliographie.

(Zusammengestellt von **H. Sachs**, Frankfurt a. M.)

Das Verzeichnis der Veröffentlichungen Ehrlichs, sowie der Arbeiten, die aus den von ihm geleiteten Instituten hervorgegangen, bzw. unter seiner Leitung entstanden sind, reicht bis zum 1. Februar 1914.

## I.

**Einzeln im Buchhandel, bzw. als Monographieen sind erschienen:**

Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus. Eine farbenanalytische Studie. Berlin (Hirschwald) **1885.**

Farbenanalytische Untersuchungen zur Histologie und Klinik des Blutes. Berlin (Hirschwald) **1891.**

Inhalt: Die unter Nr. 2, 3, 5, 7, 8, 10, 34, 45, 46, 52, 579, 590, 605 zitierten Arbeiten.

Die Wertbemessung des Diphtherieheilserums und deren theoretische Grundlagen. Jena (Fischer) **1897.**

(In Gemeinschaft mit A. Lazarus): Die Anämie. Wien (Hölder) **1898/1900.**

I. Abteilung: Normale und pathologische Histologie des Blutes. **1898** (II. Aufl. 1909). II. Abteilung: (Lazarus) Klinik der Anämieen, **1900.**

(In Gemeinschaft mit A. Lazarus und F. Pinkus): III. Abteilung: Leukämie, Pseudoleukämie und Hämoglobinämie. Wien (Hölder) **1901.**

Die 2. Auflage dieses Werkes erschien, von Helly, Lazarus und Nägeli bearbeitet, **1906, 1909** und **1913.**

Gesammelte Arbeiten zur Immunitätsforschung. Berlin (Hirschwald) **1904.**

Inhalt: die unter Nr. 71, 75, 76, 80, 81, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 205, 206, 339, 340, 391, 398, 399, 404, 408, 428, 429, 432, 448, 456, 457, 458, 469, 481, 490, 508, 511, 535, 536, 537, 538, 582 zitierten Arbeiten.

In englischer Übersetzung: Collected Studies in Immunity (Ch. Bolduan). New York (Wiley & sons) **1906.**

Inhalt: Die in der deutschen Ausgabe enthaltenen und außerdem die unter Nr. 119, 207, 208 zitierten Arbeiten.

2. Auflage der englischen Ausgabe **1910.**

Inhalt: vermehrt durch die unter Nr. 109, 326, 449, 466, 502, 546, 549, 563 zitierten Arbeiten.

Experimental researches on specific therapeutics. The Harben lectures for **1907.** London (Lewis) **1908,** enthält die unter Nr. 99, 100, 101 zitierten Vorträge.

Beiträge zur experimentellen Pathologie und Chemotherapie. Leipzig (Akadem. Verlagsges.) **1909.**

Inhalt: Die unter Nr. 99, 100, 101, 105, 106, 109 zitierten Vorträge.

Aus Theorie und Praxis der Chemotherapie. Leipzig (Klinkhardt) **1911.**

Grundlagen und Erfolge der Chemotherapie. Stuttgart (Enke) **1911.**

(In Gemeinschaft mit S. Hata: Die experimentelle Chemotherapie der Spirillosen. Berlin (Springer) **1910.**

Ferner wurden von Ehrlich herausgegeben:

(In Gemeinschaft mit Krause, Mosse, Rosin, Weigert): Enzyklopädie der mikroskopischen Technik (mit besonderer Berücksichtigung der Färbelehre). Wien (Urban und Schwarzenberg) **1902/1903.**

2. Auflage **1910.**

Abhandlungen über Salvarsan. München (Lehmann) **1911.**

Bd. II. **1912.**

Bd. III. **1913.**

Arbeiten aus dem Kgl. Institut für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M. Jena (Fischer) **1906/1913.**

Bisher erschienen:

Heft 1 (enthält die unter Nr. 91, 92, 223 zitierten Arbeiten) **1906.**

Heft 2 (enthält die unter Nr. 501 zitierte Arbeit) **1906.**

Heft 3 (enthält die unter Nr. 249, 367, 515, 563, 654 zitierten Arbeiten) **1907.**

Heft 4 (enthält die unter Nr. 343, 346, 420, 422, 423, 476, 477, 480, 495 zitierten Arbeiten) **1908.**

Heft 5 (enthält die unter Nr. 312, 313, 316 zitierten Arbeiten) **1913.**

II.

**Das Literaturverzeichnis** hat zugleich den Charakter eines **Registers**, indem die den Arbeiten in Klammern beigefügten Zahlen die Seiten des Textes bezeichnen, auf denen die Arbeiten zitiert sind.

Die Titel oft zitierter Zeitschriften sind folgendermaßen abgekürzt.

| | |
|---|---|
| **B. k. W.:** | Berliner klinische Wochenschrift. |
| **C. Bakt.:** | Centralblatt für Bakteriologie. I. Abt. Originale. |
| **Chem. Ber.:** | Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft. |
| **D. m. W.:** | Deutsche medizinische Wochenschrift. |
| **M. m. W.:** | Münchener medizinische Wochenschrift. |
| **Wien. k. W.:** | Wiener klinische Wochenschrift. |
| **Z. Hyg.:** | Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten. |
| **Z. f. J.:** | Zeitschrift für Immunitätsforschung und exp. Ther. Originale. |
| **Z. klin. Med.:** | Zeitschrift für klinische Medizin. |

Die römischen Ziffern bezeichnen die Bandzahlen, die arabischen die Seitenzahl. Ist, wie bei den Wochenschriften, an Stelle der Seitenzahl die Heftnummer angegeben, so ist das durch die vorangehende Bezeichnnug „H." oder „Nr." markiert.

a.

## Veröffentlichungen von **Paul Ehrlich.**

1. Beiträge zur Kenntnis der Anilinfärbung und ihrer Verwendung in der mikroskopischen Technik. Arch. f. mikroskop. Anatomie. **XIII**, 263, **1877** [*42, 58*].
2. Beiträge zur Kenntnis der granulierten Bindegewebszellen und der eosinophilen Leukocyten. Verhandlg. der Physiol. Ges. zu Berlin, Nr. 8, **1878/9**. Arch. f. Anatomie u. Physiol., Physiol. Abt., S. 166, **1879** [*42, 58*].
3. Über die spezifischen Granulationen des Blutes. Verhandlg. d. Physiol. Ges. zu Berlin, Nr. 20, **1878/9**. Archiv f. Anatomie u. Physiol., Physiol. Abt., S. 571, **1879** [*43, 59*].
4. Über syphilitische Herzinfarkte. Z. klin. Med. **I**, 378, **1879/80** [*479*].
5. Methodologische Beiträge zur Physiologie und Pathologie der verschiedenen Formen der Leukocyten. Z. klin. Med. **I**, 553, **1880** [*46, 60*].
6. Beobachtungen über einen Fall von perniziöser progressiver Anämie mit Sarkombildung. Beitrag zur Lehre von der akuten Herzinsuffizienz. Charité-Annal, **V**, 198, **1880** [*68*].
7. Über Regeneration und Degeneration roter Blutscheiben bei Anämieen. Ges. der Charitéärzte, 10. Juni **1880**. B. k. W., H. 28, S. 405, **1880** [*68*].
8. Beobachtungen am anämischen Blut. Ges. der Caritéärzte, 9. Dez. **1880**. B. k. W., H. 3, S. 42, **1881** [*68*].
9. Über das Methylenblau und seine klinisch-bakterioskopische

Verwertung. Z. klin. Med., **II**, 710, **1881** [*41*, *85*].

10. Über paroxysmale Häminoglobinurie. Ver. f. inn. Med. 21. März **1881**. D. m. W., H. 16, S. 224, **1881**; vgl. auch Z. klin. Med. **III**, 383, **1881** [*72*].
11. Zur Genese der Herzinfarkte. Ctlbl. f. d. med. Wiss., H. 42, S. 753, **1881** [*73*, *479*].
12. Über provozierte Fluoreszenzerscheinungen am Auge. D. m. W., H. 2—4, **1882** [*478*].
13. Über eine neue Harnprobe. Z. klin. Med. **V**, 285, **1882** [*494*].
14. Über die Färbung der Tuberkelbazillen. Ver. f. inn. Med. 1. Mai **1882**. D. m. W., H. 19, S. 269, **1882** [*48*, *92*].
15. Diskussion zur Färbung des Tuberkelbazillus. Ver. f. inn. Med. 1. Mai **1882**. D. m. W., H. 26, S. 365, **1882** [*92*].
16. Beiträge zur Ätiologie und Histologie pleuritischer Exsudate. Charité-Annalen, **VII**, 199, **1882** [*65*, *87*].
    a) Über die Pleuritis im Wochenbett, insbesondere über die puerperale hämorrhagische Pleuritis und ihre Beziehungen zu den Mikroorganismen und der Septiko-Pyämie. S. 202.
    b) Zur Diagnostik der karzinomatösen Pleuritis. S. 226.
17. Über einen Fall von Phosphorvergiftung mit symmetrischer Gangräna pedum. Charité-Ann. **VII**, 231, **1882** [*479*].
18. Über eine neue Methode zur Färbung von Tuberkelbacillen. Ges. d. Char.-Ärzte. 27. April **1882**. B. k. W., S. 13, **1883** [*92*].
19. Über Diazoreaktion. Ges. d. Char.-Ärzte. 2. Dez. **1882**. B. k. W., S. 135, **1883** [*495*].
20. Über das Vorkommen von Glykogen im diabetischen und im normalen Organismus. (Anhang I zu der Arbeit von F. Th. Frerichs: Über den plötzlichen Tod und über das Coma bei Diabetes.) Z. klin. Med. **VI**, 33, **1883** [*74*, *500*].
21. Referat über die gegen Robert Kochs Entdeckung des Tuberkelbazillus neuerlichst hervorgetretenen Einwände. Ver. f. inn. Med. 5. März **1883**. D. m. W., H. 11, S. 159, **1883**; vgl. auch Z. klin. Med., **VI**, 574, **1883** [*93*].
22. Über eine neue Harnprobe. Charité-Ann. **VIII**, 140, **1883** [*495*].
23. Einige Worte über die Diazoreaktion. D. m. W., H. 38, **1883** [*495*].
24. Sulfodiazobenzol, ein Reagens auf Bilirubin. Ctlbl. f. klin. Med., Nr. 45, **1883** [*433*, *495*].
25. Demonstration eines leukämischen Blutpräparates. Ver. f. inn. Med. 5. Nov. **1883**. D. m. W., H. 46, S. 670, **1883** [*48*, *67*].
26. Über die Sulfodiazobenzolreaktion. D. m. W., H. 27, **1884** [*495*].
27. Diskussion über die Sulfodiazobenzolreaktion. Ver. f. inn. Med. 16. Juni **1884**. D. m. W., H. 27, S. 430, **1884** [*496*].
28. Zur Kenntnis des akuten Milztumors. Charité-Ann. **IX**, 107, **1884**.
29. Demonstration eines Kranken mit tuberkulösem Lippengeschwür. Ges. d. Char.-Ärzte. 30. April **1885**. B. k. W., S. 665, **1885** [*94*].
30. Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus. Eine farbenanalytische Studie. Berlin (Hirschwald). **1885** [*24*, *134*].
31. Zur biologischen Verwertung des Methylenblaus. (Cf. auch Ges. d. Charité-Ärzte, 18. Dez. **1884**.) Ctlbl. f. med. Wiss. **XXIII**, Nr. 8, S. 113, **1885** [*27*, *51*].
32. Antikritische Bemerkungen über

Drüsenfunktionen. Ctlbl. f. med. Wiss. **XXIII**, Nr. 10. S. 161, **1885** [*27*].

33. Über Wesen und Behandlung des Jodismus. Char.-Ann. **X**, 129, **1885** [*479*].
34. Zur Physiologie und Pathologie der Blutscheiben. Char.-Ann. **X**, 136, **1885** [*68, 72, 227*].
35. Beobachtungen über Thallinwirkung. Ges. d. Char.-Ärzte, 19. Nov. **1885**. B. k. W., S. 163, **1886** [*480*].
36. Über die Methylenblaureaktion der lebenden Nervensubstanz. D. m. W., H. 4, **1886** [*51, 77, 136, 481*].
37. Technische Mitteilung über Herstellung des sauren Hämatoxylins und des sauren Eosin-Hämatoxylins. Z. f. wiss. Mikroskopie u. f. mikroskop. Technik **III**, 150, **1886**.
38. Beiträge zur Theorie der Bazillenfärbung. Char.-Ann. **XI**, 123, **1886** [*48, 94*].
39. Nachträgliche Bemerkungen zur Diazoreaktion. Über den Bilirubinnachweis. Char.-Ann. **XI**, 339, **1886** [*495*].
40. Experimentelles und Klinisches über Thallin. D. m. W., H. 48/50, **1886** [*91, 480*].
41. Diskussion über Thallinbehandlung des Ileotyhus. Ver. f. inn. Med., 15. Nov. **1886**. D. m. W., H. 50, S. 899, **1886** [*480*].
42. Über die Methylenblaureaktion der lebenden Nervensubstanz. Biol. Ctlbl. **VI**, 214, **1887** [*51, 77*].
43. Über Pleuritis. Ges. d. Char.-Ärzte, 24. Febr. 1887. B. k. W., H. 31, S. 579, **1887**.
44. Zur therapeutischen Bedeutung der substituierenden Schwefelsäuregruppe. Ther. Monatsh., März, S. 90, **1887** [*484*].
45. Über die Bedeutung der neutrophilen Körnung. Char.-Ann. **XII**, 288, **1887** [*46, 64*].
46. Über einen Fall von Anämie mit Bemerkungen über regenerative Veränderungen des Knochenmarks. Char.-Ann. **XIII**, 300, **1888** [*72*].
47. Diskussionsbemerkungen zum Vortrage von F. Müller (Perniziöse Anämie). Ges. d. Char.-Ärzte. B. k. W., H. 1, S. 17, **1889** [*68*].
48. Studien in der Kokainreihe. D. m. W., H. 32, **1890** [*160, 485*].
49. Experimentelle Untersuchungen über Immunität. I. Über Ricin. D. m. W., H. 32, **1891** [*151, 160, 200, 236, 293*].
50. Experimentelle Untersuchungen über Immunität. II. Über Abrin. D. m. W., H. 44, **1891** [*151, 160, 200, 236*].
51. Über die neueren Erfahrungen in der Behandlung der Tuberkulose nach Koch, insbesondere der Lungenschwindsucht. VII. Internat. Kongreß f. Hygiene und Demographie **II**, 211, London **1891** [*97, 341*].
    Vgl. auch: Recent experiences in the treatment of tuberculosis (with special reference to pulmonary consumption) by Kochs method. The Lancet, 24. Oct. S. 917, **1891**.
52. Zur Geschichte der Granula In: Farbenanalytische Studien zur Histologie und Klinik des Blutes, S. 134. Berlin (Hirschwald) **1891** [*62*].
53. Über Immunität durch Vererbung und Säugung. Z. Hyg. **XII**, 183, **1892** [*205, 341, 350*].
54. Bemerkungen über die Immunität durch Vererbung und Säugung. D. m. W., H. 22, **1892** [*205, 350*].
55. Über schwere anämische Zustände. Verhdlg. des 11. Kongr. f. inn. Med. Leipzig, **1892** [*68*].
56. Über Farbstoffreaktionen (Neu-

tralrot). Ver. f. inn. Med. (Berlin), 18. Dez. **1893**. B. k. W., H. 21, **1894**. Z. f. wiss. Mikroskopie **XI**, 250, **1894**. Allgem. med. Centralzeitung, Nr. 2, S. 20, **1894** [*53*].

57. Über die Behandlung der Diphtherie mit Heilserum. 66. Versamml. Deutsch. Naturf. und Ärzte. Wien, 25. Sept. **1894**.
58. Über Gewinnung, Wertbestimmung und Verwertung des Diphtherieheilserums. Vortrag, geh. in d. Deut. Ges. f. öffentl. Gesundheitspflege zu Berlin. Hyg. Rdschau, H. 24, **1894** [*155, 237, 294*].
59. Die staatliche Kontrolle des Diphtherieserums. B. k. W., H. 20, **1896** [*306*].
60. Die Wertbemessung des Diphtherieheilserums und deren theoretische Grundlagen. Klin. Jahrb. **VI**, 299, **1897/8** [*135, 155, 167, 234, 292*].
61. Zur Kenntnis der Antitoxinwirkung. Fortsch. d. Med. **XV**, 41, **1897** [*146, 156, 167, 205, 209, 237, 296, 344*].
62. Über die Konstitution des Diphtheriegifts. D. m. W., H. 38, **1898** [*140, 155, 171, 238, 294*].
63. Diskussionsbemerkungen (Crotin und Tetanolysin). Ges. d. Char.-Ärzte. B. k. W., H. 12, S. 273, **1898** [*157, 181, 191, 205, 237, 313*].
64. Diskussionsbemerkungen zum Vortrag von Michaelis über Diazoreaktion. Berl. Ver. f. inn. Med., 30. Jan. 1899. D. m. W., H. 8, Vereinsbeilage, S. 46, **1899** [*495*].
65. Observations upon the constitution of the diphtheria toxin. Transactions of the Jenner Institute of preventive medicine, **1899** [*171*].
66. (Nach der bei der Einweihung des Instituts für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. gehaltenen Rede.) Mode d'action et mécanisme de production des antitoxines. Semaine médicale, 6. Dez., **1899**.
67. Cellularbiologische Betrachtungen über Immunität. Vortrag in der Senckenbergischen Naturforschenden Gesellschaft Frankfurt a. M., am 7. April 1900. Berichte dieser Gesellschaft, S. CXLVII, **1900**.
68. Toxines et Antitoxines. XIII. Congrès international de médecine. Paris **1900**, cf. auch Wiener médecin. Presse, H. 33, **1900** [*183, 348*].
69. La leucocytose. XIII. Congrès international de médecine. Paris, August **1900** [*66*].
70. On immunity with special reference to cell life (Croonian Lecture). Proceedings of the Royal Soc. **LXVI**, 424, **1900** [*135, 252, 317*].
71. Die Schutzstoffe des Blutes. (73. Versammlg. Deutscher Naturforsch. u. Ärzte, Hamburg 1901). D. m. W., H. 50/52, **1901** [*135, 217, 236, 252*].
72. Über Toxine und Antitoxine, Therapie der Gegenwart (N. F.) **III**, 193, **1901** [*140, 183, 236*].
73. Über die Dimethylamidobenzaldehydreaktion. Med. Woche. Nr. 15, **1901** [*434, 498*].
74. Die Seitenkettentheorie und ihre Gegner. Vortrag im Berliner Verein für innere Medizin am 16. Dezember 1901. Ref. M. m. W., H. 52, S. 2123, **1901** und B. k. W., H. 1, S. 18, **1902** [*148, 252*].
75. Schlußbetrachtungen. Nothnagels Spez. Pathol. u. Therapie. **VIII**, 3. Abtlg., S. 163, **1901** [*135, 164, 207, 211, 250*].
76. Über die Beziehungen von che-

mischer Konstitution, Verteilung und pharmakodynamischer Wirkung. Vortrag im Verein für innere Medizin, Berlin, am 12. Dez. **1898**. Ref. M. m. W., H. 51, S. 1654, **1898**. Von Leyden-Festschrift **I**. Berlin (Hirschwald) **1902** [*54, 135, 486, 506*].

77. Diskussionsbemerkungen zum Vortrag von Kaminer (Jodreaktion der Leukocyten) 20. Kongr. f. inn. Med. Wiesbaden **1902**.
78. Bemerkungen zu dem Aufsatze von Dr. von Niessen in Wiesbaden „Diphtheriebazillen im Blute und im Behringschen Heilserum". W. med. W., H. 3, **1903**.
79. Betrachtungen über den Mechanismus der Ambozeptorwirkung und seine teleologische Bedeutung. Kochfestschrift, S. 509, Jena (Fischer) **1903** [*269, 317*].
80. Über die Giftkomponenten des Diphtherietoxins. B. k. W., H. 35—37, **1903** [*185, 239, 298*].
81. Toxin und Antitoxin. Entgegnung auf den neuesten Angriff Grubers. M. m. W., H. 33/34, **1903** [*148, 185, 236, 252, 341*].
82. Toxin und Antitoxin. Entgegnung aus Grubers Replik. M. m. W., H. 52, **1903** [*148, 252*].
83. Quelles sont les meilleurs méthodes pour mésurer l'activité des sérums? 13. Internat. Kongreß f. Hyg. Brüssel **1903**.
84. Vorläufige Bemerkungen zur Mitteilung von Arrhenius „Zur Theorie der Absättigung von Toxin und Antitoxin". B. k. W., H. 9, **1904** [*185, 239*].
85. Die Bindungsverhältnisse zwischen Toxin und Antitoxin. University Record, **IX**, 65, **1904** [*140, 183*].
86. Diskussion zum Vortrag von Arrhenius (Bunsen-Gesellschaft). Zeitschr. f. Elektrochemie, X. Jahrgang Nr. 35, **1904** [*187*].
87. Über den jetzigen Stand der Lehre von den eosinophilen Zellen. 76. Versamml. deutscher Naturforscher u. Ärzte. Breslau **1904** [*43, 65*].
88. Experimentelle Karzinomstudien an Mäusen. Z. f. ärztl. Fortbildung 3. Jahrg., Nr. 7, **1906** [*365, 381*].
89. Weigerts Verdienste um die histologische Wissenschaft. In Rieders „Carl Weigert", S. 138. Berlin (Springer) **1906**.
90. Die Aufgaben der Chemotherapie. Frankf. Ztg. (II. Morgenblatt) 4. Sept. **1906**.
91. Über ein transplantables Chondrom der Maus. Arb. a. d. Kgl. Inst. f. exp. Ther. Frankfurt a. M., H. 1, S. 63, Jena (Fischer) **1906** [*364, 381*].
92. Experimentelle Karzinomstudien an Mäusen. Arb. a. d. Kgl. Inst. f. exp. Ther. Frankfurt a. M., H. 1, S. 75, Jena (Fischer) **1906** [*364, 381*].
93. Chemotherapeutische Trypanosomenstudien (Berl. med. Ges., 13. Februar 1907). B. k. W., H. 9—12, **1907** [*147, 422, 545, 583*].
94. Biologische Therapie. Internat. W. f. Wissensch., Kunst und Technik. 1. Jahrg. Nr. 4, **1907** [*244*].
95 Experimentelle Studien an Mäusetumoren. Ztschr. f. Krebsforschung, **V**, 59, **1907** [*215, 367, 390*].
96. Bemerkungen zu dem Aufsätzen des Herrn Dr. Orthner (die Athrepsie betreffend). Wien. k. W., H. 49, **1907** [*394*].
97. Das Kgl. Institut f. exp. Ther. zu Frankfurt a. M. Festschrift z. 14. Internat. Kongreß f. Hyg. u. Demographie in Berlin. Jena (Fischer) **1907**.

98. Über Antigene und Antikörper. Handb. der Immunitätsforschg., **I**, 1, **1907/08** [*135, 243, 270*].
99. Über Immunität mit besonderer Berücksichtigung der Beziehung zwischen Verteilung und Wirkung der Antigene. (Harben lectures, **1907**, **I**). Experimental researches on specific therapeutics. The Harben lectures for 1907, S. 1, London (Lewis) **1908** und Beiträge z. exp. Pathol. und Chemotherap. S. 3, Leipzig (Akadem. Verlagsgesellsch.) **1909** [*135, 189, 244, 265*].
100. Über athreptische Funktionen. (Harben lectures **1907**, **II**). Journ. of the Roy. Inst. of public health. Vol. **XV**, Nr. 7, **1907**. Cfr. auch: Experimental researches on specific therapeutics. The Harben lectures for **1907**, S. 42. London (Lewis) **1908** und Beitr. z. exp. Pathol. u. Chemotherap., S. 50, Leipzig (Akadem. Verlagsgesellsch.) **1909** [*106, 215, 342, 390, 399, 403*].
101. Chemotherapeutische Trypanosomenstudien. (Harben lecture 1907, **III**). Journ. of the Roy. Inst. of public health, Vol. **XV**, No. 8, **1907**, cfr. auch: Experimental researches on specific therapeutics. The Harben lectures for **1907**, S. 81. London (Lewis) **1908** und Beitr. z. exp. Pathol. u. Chemotherap. S. 97 Leipzig (Akad. Verlagsges.) **1909** [*403, 545*].
102. Historisches zur Frage der Immunisierung per os. Wien. k. W., H. 18, **1908** [*152*].
103. Eugen Albrecht. Frankf. Ztg. (III. Morgenblatt) 23. Juni 1908.
104. Das Leberglykogen d. Frosches betreffendes Schreiben an den Herausgeber. Pflügers Archiv f. die gesamte Phys. **CXXI**, 236, **1908** [*502*].
105. Über moderne Chemotherapie. X. Tagung der Deutsch. Dermatol. Ges. Frankfurt a. M., 8. Juni 1908 ,S. 59, cf. auch: Beitr. z. exp. Pathol. u. Chemotherap., S. 165, Leipzig (Akadem. Verlagsges.) **1909** [*545*].
106. Über den jetzigen Stand der Karzinomforschung. (Vortrag vor den Studenten der Amsterdamer Universitäts-Vereinigung für wissenschaftliche Arbeit, 1. Juni 1908). Beitr. z. exp. Pathol. u. Chemotherap., S. 117, Leipzig (Akadem. Verlagsges.) **1909** [*390, 399*].
107. Die Trypanosomen und ihre Bekämpfung. (Vortrag in der Senckenbergischen Naturforschenden Gesellschaft zu Frankfurt a. M., 21. September 1908). 40. Bericht dieser Gesellschaft, S. 108*, **1909**.
108. Über den jetzigen Stand der Chemotherapie. (Vortrag v. d. Deutsch. Chem. Ges. am 31. Okt. 1908.) Chem. Ber. **XLII**, 17, **1909** [*54, 147, 422, 453, 491, 545, 583*].
109. Über Partialfunktionen der Zelle. (Nobelvortrag, 11. Dez. 1908, Stockholm). M. m. W., H. 5, **1909**, vgl. auch Beitr. z. exp. Pathol. u. Chemotherap. S. 203, Leipzig (Akadem. Verlagsges.) **1909** [*112, 135, 147, 244, 250, 401, 545*].
110. Über die neuesten Ergebnisse auf dem Gebiete der Trypanosomenforschung. (Deutsche Tropenmedizin. Gesellschaft, Berlin, 7. April 1909). Arch. f. Schiffs- u. Trop.-Hyg., **XIII**, 321, Beiheft 6, S. 91, **1909** [*116, 342, 545*].
111. Chemotherapie von Infektionskrankheiten. Z. f. ärztl. Fortbildung Jahrg. VI, Nr. 23, S. 721, **1909** [*119, 545, 583*].
112. Die Grundlagen der experimen-

tellen Chemotherapie. Vortrag, geh. i. d. Hauptversammlung d. Ver. Deutscher Chemiker. Frankfurt 1909. Z. f. angew. Chem. **XXIII**, 2, **1910** [*422, 459*].

113. Robert Koch. Frankf. Zeitung (I. Morgenblatt) 2. Juni, **1910** [*92*].
114. Robert Koch. Z. f. I., **VI**, **1910**.
115. Über Blasenstörungen nach Anwendung des Präparates 606. Wien. k. W., H. 31, S. 1131, **1910** [*603*].
116. Bietet die intravenöse Injektion von 606 besondere Gefahren? M. m. W., H. 35, **1910** [*608*].
117. Über die Schlafkrankheit. IV. Internationaler Kongreß zur Fürsorge für Geisteskranke, Berlin, 3.—7. Oktober, **1910**.
118. Die Chemotherapie, ihre Grundlagen und praktische Bedeutung. Handb. d. Serumtherapie u. exp. Ther. (Wolff-Eisner) S. 316. München (Lehmann) **1910**.
119. A general review of the reccent work in immunity. In: „Studies in immunity". 2. Aufl. New York (Wiley) **1910** [*270*].
120. Allgemeine Chemotherapie. Vortrag auf dem 27. Kongreß für innere Medizin, Wiesbaden, 19. April **1910**.
121. Die Behandlung der Syphilis mit dem Ehrlichschen Präparat 606. 82. Naturforscherversammlung, Königsberg. D. m. W., H. 41, S. 1893, **1910** [*614*].
122. Bemerkungen zu der Arbeit von W. Pick „Die Behandlung der Syphilis mit dem Präparat von Ehrlich-Hata". Wien. k. W., H. 42, S. 1487, **1910**.
123. Diskussionsbemerkungen zum Vortrag von Wechselmann (Chemotherapie der Syphilis). Freie Vereinig. f. Mikrobiol. C. Bakt. 1. Abt. Ref. **XLVII**, Beiheft, 223, **1910**.
124. Über die Behandlung der Syphilis mit Dioxydiamidoarsenobenzol. Klin. therap. W. **1910**.
125. Schlußbemerkungen. In Ehrlich-Hata, „Die exper. Chemotherapie der Spirillosen", S. 114. Berlin (Springer) **1910** [*461, 583, 611*].
126. Nervenstörungen und Salvarsanbehandlung. B. k. W., H. 51, **1910** [*606*].
127. Anwendung und Wirkung von Salvarsan (Vortrag im ärztlichen Fortbildungskurse in Frankfurt a. M. am 8. Dez. 1910). D. m. W., H. 52, S. 2437, **1910**.
128. Pro und contra Salvarsan. Wien. m. W., H. 1, **1911** [*602*].
129. Richtigstellung zu der Arbeit Fritz Lessers. B. k. W., H. 24, **1911**.
130. Über Salvarsan. M. m. W., H. 27, **1911**.
131. Die Salvarsantherapie. Rückblicke und Ausblicke. M. m. W., H. 1, **1911**. Abhandlg. über Salvarsan, **I**, 375, München (Lehmann) **1911** [*587, 602*].
132. Über Chemotherapie, (Referat in d. Freien Vereinig. f. Mikrobiol.) C. Bakt., I. Abt. Ref. **L**, Beiheft, 94, **1911** [*119, 545, 605*].
133. Schlußwort. (Vereinig. f. Mikrobiol.) C. Bakt., I. Abt. Ref. **L**, Beiheft, 125, **1911**.
134. Aus Theorie u. Praxis der Chemotherapie. Fol. Serologica. **VII**, 697, **1911** u. Leipzig (Klinkhardt) **1911** [*545, 605*].
135. Grundlagen u. Erfolge der Chemotherapie. (Vortrag im Landesverband Württemberg des Deutschen Frauenvereins vom Roten Kreuz für die Kolonieen, 20. Febr. 1911). Stuttgart (Enke) **1911** [*545, 611*].
136. Die Chemotherapie der Spirillosen. Z. f. J., Referate 1910, S. 1123, **1911**.
137. Zu den vorstehenden Bemer-

kungen von Paul Uhlenhuth u. Schlußwort. Z. f. I., Referate 1910, S. 1143 u. 1152, **1911** [*461*].

138. Über Salvarsan. 83. Versammlg. Deutsch. Naturf. u. Ärzte in Karlsruhe. 27. September 1911. M. m. W., H. 47, S. 2481, **1911** u. Abhandlgn. über Salvarsan, **II**, 547, München (Lehmann) **1912** [*469, 587, 604*].

139. Schlußbemerkungen. Abhandlg. über Salvarsan. **II**, 568, München (Lehmann) **1912** [*604*].

140. Diskussionsbemerkungen zu dem Vortrag von Schlecht (Eosinophilie). 29. Kongr. f. inn. M., Wiesbaden, 18. April **1912**.

141. Diskussionsbemerkungen zu dem Vortrag von Klemperer (Salvarsan bei Scharlach). 29. Kongr. f. inn. Med., Wiesbaden. 18. April **1912**.

142. Offener Brief an den Herausgeber. Dermatol. Ctlbl. April **1912**.

143. Bericht über die Tätigkeit des Instituts für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M. im Jahre 1910/11 und im Jahre 1911/12. Veröffentlichungen aus dem Gebiete der Medizinalverwaltung, **I**, H. 10, **1912**.

144. Diskussion zu dem Referat Nonne u. dem Vortrag Benario in der Jahresversammlung Deutsch. Nervenärzte in Frankfurt a. M. Deutsch. Z. f. Nervenheilkunde, **XLIII**, **1912** [*611*].

145. Über den jetzigen Stand der Salvarsantherapie mit besonderer Berücksichtigung der Nebenwirkungen und deren Vermeidung. Z. f. Chemother. usw. Orig. **I**, 1, **1912** [*469, 611*].

146. Über Laboratoriumsversuche u. klinische Erprobung von Heilstoffen. (Hauptversammlg. des Vereins Deutsch. Chemiker in Freiburg i. B.) Chemiker Ztg., S. 637, **1912** [*471*].

147. Über Salvarsan und Neosalvarsan. Schlußbemerkungen. Abhandlungen über Salvarsan, **III**, 545, München (Lehmann) **1913** [*587, 612*].

148. Chemotherapie. (Vortrag in der Hauptversammlg. der Kaiser-Wilhelm-Gesellschaft, 24. Okt. 1912). Soziale Kultur und Volkswohlfahrt während der ersten 25 Regierungsjahre Kaiser Wilhelm II., S. 345. Berlin (G. Stilke) **1913** [*545, 583, 619*].

149. Demonstration eines Präparates mit Spirochäten im Gehirn eines Falles von Paralysis progressiva (Originalpräparat von Noguchi, New York). Ärztl. Verein in Frankfurt a. M., 10. Febr. 1913. M. m. W., H. 8, S. 443, **1913**.

150. Über Chemotherapie. Die Be-Behandlung der Syphilis mit Salvarsan und verwandten Stoffen. 17. Intern. med. Kongr. London **1913**. Cf. M. m. W., H. 35, S. 1959, **1913** [*612*].

151. Adress in pathology on Chemotherapeutics: scientific principles, methods and results. The Lancet, **II**, Nr. 7, S. 445 und The British medical journal, Nr. 2746, S. 353, **1913** [*545, 612*].

152. Erinnerungen aus der Zeit der ätiologischen Tuberkuloseforschung Roberts Kochs. D. m. W., H. 50, **1913** [*49, 97, 495*].

Gemeinschaftlich mit Mitarbeitern veröffentlicht:

153. (und H. Apolant). Beobachtungen über maligne Mäusetumoren. B. k. W., H. 28, **1905** [*366*].

154. —, Erwiderung auf den Artikel des Herrn Dr. Bashford: Einige Bemerkungen zur Methodik der

experimentellen Krebsforschung. B. k. W., H. 21, **1906** [*369*].
155. —, Zur Kenntnis der Sarkomentwicklung bei Karzinomtransplantationen. C. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat., **XVII**, 513, **1906** [*370*].
156. —, Über spontane Mischtumoren der Maus. B. k. W., H. 44, **1907** [*370*].
157. —, Über die Genese des Karzinoms. Referat in der XII. Tagung d. Deutsch. Pathol.-Gesellsch., Kiel, **1908** [*383*].
158. — (und M. Haaland), Experimentelle Beiträge zur Geschwulstlehre. B. k. W., H. 2, **1906** [*368*].
159. (und H. Bechhold), Beziehung zwischen chem. Konstitution u. Desinfektionswirkung, ein Beitrag zum Studium der „inneren Antisepsis". Z. f. physiol. Chem. **XLVII**, 173, **1906** [*508*].
160. (und E. Behring), Zur Diphtherieimmunisierungs- und Heilungsfrage. D. m. W., H. 20, **1894**.
161. (und L. Benda), Über die Einwirkung von Cyankalium auf Pyronin- und Akridiniumfarbstoffe. Chem. Ber., **XLVI**, 1931, **1913** [*428*].
162. (und A. Bertheim), Über p-Aminophenylarsinsäure. Chem. Ber., **XL**, 3292, **1907** [*448*, *555*, *584*].
163. —, Zur Chemie des Atoxyls. Pharmaz. Ztg., H. 35, **1907** [*448*].
164. —, Zur Geschichte der Atoxylformel. Med. Klinik, H. 43, **1907** [*448*].
165. —, Zur Diazoreaktion des Atoxyls. Chem.-Ztg., **XXXII**, 1059, **1908**.
166. —, Reduktionsprodukte der Arsanilsäure und ihrer Derivate. I. Mitteil.: Über p-Aminophenylarsenoxyd. Chem. Ber. **XLIII**, 917, **1910** [*454*].
167. —, Reduktionsprodukte der Arsanilsäure und ihrer Derivate, II. Mitteil.: Über p, p'-diaminoarsenobenzol. Chem. Ber., **XLIV**, 1260, **1911** [*456*].
168. —, Über das salzsaure 3,3'-diamino-, 4,4'-dioxyarsenobenzol und seine nächsten Verwandten. Chem. Ber., **XLV**, 756, **1912** [*467*].
169. (und L. Brieger), Über das Auftreten des malignen Ödems bei Typhus abdominalis. B. k. W., H. 44, **1882** [*90*].
170. —, Über die Ausschaltung des Lendenmarkgraus. Z. klin. Med., **VII**, Suppl. S. 155, **1884** [*81*].
171. —, Über die Übertragung von Immunität durch Milch. D. m. W., H. 18, **1892** [*153*, *237*, *352*].
172. —, Beiträge zur Kenntnis der Milch immunisierter Tiere. Z. Hyg., **XIII**, 336, **1893** [*153*, *237*, *352*].
173. (und G. Cohn), Die Einwirkung von Säurechloriden auf Nitrosodimethylanilin. Chem. Ber., **XXVI**, 1756, **1893** [*423*].
174. (und A. Einhorn), Über die physiologische Wirkung der Verbindungen der Cocainreihe. Chem. Ber., **XXVII**, 1870, **1894** [*433*, *485*].
175. (und R. Gonder), Chemotherapie. Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, 2. Aufl. **III**, 337, **1913** [*618*].
176. (und P. Guttmann), Entgegnung auf die Mitteilung über Tuberkelbazillen im Blut nach Kochschen Injektionen. D. m. W., H. 6, **1891** [*90*].
177. —, Über Anfangsbehandlung der Lungen- u. Kehlkopftuberkulose mit Kochschem Tuberkulin. D. m. W., H. 10, **1891** [*97*].
178. —, Die Wirksamkeit kleiner Tuberkulindosen gegen Lungenschwindsucht. D. m. W., H. 24, **1891** [*97*].

179. —, Über die Wirkung des Methylenblaus bei Malaria. B. k. W., H. 39, **1891** [*420, 483, 506, 551*].
180. (und S. Hata), Die experimentelle Chemotherapie der Spirillosen. Berlin (Springer), **1910** [*546, 586, 619*].
181. (und C. A. Herter), Über einige Verwendungen der Naphthochinonsulfosäure. Z. f. physiol. Chem., **XLI**, 379, **1904** [*435, 451, 487*].
182. (und W. Hübener), Über die Vererbung der Immunität bei Tetanus. Z. Hyg., **XVIII**, 51, **1894** [*341, 353*].
183. (und P. Karrer), Über Arsenostibino- und Arseno-bismuto-Verbindungen. Chem. Ber., **XLVI**, 3564, **1913** [*475*].
184. (und H. Kossel), Über die Anwendung des Diphtherieantitoxins. Z. Hyg., **XVII**, 486, **1894** [*155*].
185. — (und A. Wassermann), Über Gewinnung und Verwendung des Diphtherieheilserums. D. m. W., H. 16, **1894** [*155, 237, 293*].
186. (und B. Laquer), Über kontinuierliche Thallinzuführung und deren Wirkung beim Abdominaltyphus. B. k. W., H. 51/52, **1885** [*481*].
187. (und A. Lazarus), Die Anämie. I. Abteilung, Normale und pathologische Histologie d. Blutes. (Nothnagels Spez. Pathol. und Ther. **VIII**, 1. u. 2. Abtlg.) Wien (Hölder) **1898** (**1900**), 2. Auflage von Helly, Lazarus und Nägeli, **1906**, **1909**, **1913** [*47, 65, 124*].
188. —, Die Anämieen. Deutsche Klinik am Eingange des XX. Jahrhunderts, **III**, 81, **1901** [*68*].
189. — (und F. Pinkus), Leukämie, Pseudoleukämie, Hämoglobinämie (Nothnagels Spec. Pathol. u. Ther., **VIII**, 3. Abtlg.). Wien (Hölder) **1901**, II. Aufl. von Nägeli, **1913** [*67*].
190. (und A. Leppmann), Über schmerzstillende Wirkung des Methylenblaus. D. m. W., H. 23, **1890** [*81, 483*].
191. (und H. T. Marshall), Über die komplementophilen Gruppen der Ambozeptoren. B. k. W., H. 25, **1902** [*271*].
192. (und J. Morgenroth), Zur Theorie der Lysinwirkung. B. k. W., H. 1, **1899** [*145, 209, 246, 315*].
193. —, Über Hämolysine, II. Mitteilung. B. k. W., H. 22, **1899** [*209, 246, 315*].
194. —, Über Hämolysine. III. Mitteilung. B. k. W., H. 21, **1900** [*162, 209, 246, 315, 354*].
195. —, Über Hämolysine, IV. Mitteilung. B. k. W., H. 31, **1900** [*209, 246, 315*].
196. —, Über Hämolysine. V. Mitteilung. B. k. W., H. 10, **1901** [*209, 246, 315*].
197. —, Über Hämolysine. VI. Mitteilung. B. k. W., H. 21/22, **1901** [*149, 163, 209, 246, 315, 341, 347*].
198. —, Die Seitenkettentheorie der Immunität. Emmerich-Trillichs Anleitung zu hygienischen Untersuchungen. III. Aufl., München (Rieger) **1902** [*144, 252*].
199. —, Artikel „Lysine". Enzyklopädie der Hygiene (Pfeiffer, Proskauer, Oppenheimer), Leipzig, **1903** [*252*].
200. —, Wirkung und Entstehung der aktiven Stoffe im Serum nach der Seitenkettentheorie. Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, I. Aufl.) **IV**, 432, **1904** [*135, 236, 252*].
201. (mit W. Roehl und R. Gulbransen), Über serumfeste Trypanosomenstämme. Bemer-

kungen z. d. Arb. von Levaditi und Mutermilch. Z. f. I., **III**, 296, **1909** [*113, 580*].

202. (und F. Sachs), Über Kondensationen von aromatischen Nitrosoverbindungen mit Methylenderivaten. I. Mitteil. Chem. Ber. **XXXII**, 2341, **1899** [*426*].

203. —, Über Kondensationen von aromatischen Nitrosoverbindungen mit Methylenderivaten. II. Mitteilung. Chem. Ber. **XXXIII**, 959, **1900** [*426*].

204. —, Die Darstellung von Triphenylmethanfarbstoffen aus Brommagnesiumdimethylanilin als Vorlesungsversuch. Chem. Ber. **XXXVI**, 4296, **1903** [*439*].

205. (und H. Sachs), Über die Vielheit der Komplemente des Serums. B. k. W., H. 14/15, **1902** ]*261*].

206. —, Über den Mechanismus der Ambozeptorenwirkung. B. k. W., H. 21, **1902** [*141, 218, 255*].

207. —, Über die Beziehungen zwisch. Toxin und Antitoxin und die Wege ihrer Erforschung. Chem. Novitäten I, H. 1/3. Leipzig (Fock) **1905** [*185, 239*].

208. —, Über den Mechanismus der Antiambozeptorwirkung. B. k. W., H. 19 u. 20, **1905** [*279*].

209. —, Kritiker der Seitenkettentheorie im Lichte ihrer experimentellen und literarischen Forschung. Ein Kommentar zu den Arbeiten von Bang und Forssman. M. m. W., H. 49 u. 50, **1909** [*148, 163, 252*].

210. —, Ist die Ehrlichsche Seitenkettentheorie mit den tatsächlichen Verhältnissen vereinbar? Bemerkungen zu d. II. Mitteil. von Bang und Forssman. M. m. W., H. 24, **1910** [*148, 163, 225, 252*].

211. (und K. Shiga), Farbentherapeutische Versuche bei Trypanosomenerkrankungen. B. k. W., H. 13 u. 14, **1904** [*421, 546, 584*].

212. (und A. Wassermann), Über die Gewinnung der Diphtherie-Antitoxine aus Blutserum und Milch immunisierter Tiere. Z. Hyg., **XVIII**, 239, **1894** [*155, 237, 293*].

b.

**Aus den von Ehrlich geleiteten Instituten hervorgegangene, bzw. unter seiner Leitung entstandene Arbeiten.**

213. **S. Abramow.** Über den Einfluß der Reaktion auf die Komplementbindungsphänomene und d. sie vermittelnden Komponenten. Z. f. I., **VIII**, 145, **1910** [*268*].

214. **K. Altmann,** Über hämolysebeschleunigende Substanzen des normalen Blutserums. Z. f. I., **VIII**, 24, **1910** [*280*].

215. —, Über Immunisierung mit ambozeptorbeladenen Blutkörperchen. Z. f. I., **XIII**, 219, **1912** [*280*].

216. —, (und J. H. Schultz), Verwendung von Bakterien-Antiforminextrakten als Antigene bei der Komplementbindung. Z. f. I., **III**, 98, **1909** [*102, 282*].
— (mit H. Sachs), s. 560—562.

217. **N. Andreew,** Über die vitale metachromatische Färbung mit Sulforhodamin. Virchow's Arch. **CCIV**, 447, **1911** [*56*].

218. —, Über die pathologisch-anatomischen Veränderungen einiger Organe nach Vergiftung mit verschiedenen chemotherapeutischen Substanzen. Virchows Arch., **CCV**, 263, **1911** [*562*].

219. **H. Apolant,** Beitrag zur Histologie der Geflügelpocke. Vir-

chows Arch., **CLXXIV**, 86, **1903** [*363*].

220. —, Über die Einwirkung von Radiumstrahlen auf das Karzinom der Mäuse. D. m. W., H. 13, **1904** [*377*].

221. —, Über die Rückbildung der Mäusekarzinome unter dem Einfluß der Radiumstrahlen. D. m. W., H. 31, **1904** [*377*].

222. —, Über die Entstehung eines Spindelzellensarkoms im Verlauf lange Zeit fortgesetzter Karzinomimpfungen. Verhandl. der Patholog.-Ges. Meran, **1905**.

223. —, Die epithelialen Geschwülste der Maus. Arb. a. d. Kgl. Inst. f. exp. Ther., Frankfurt a. M., H. 1, S. 7, **1906** [*363, 381*].

224. —, Über den jetzigen Stand der Krebsforschung. Therapie der Gegenwart (N. F.), **VIII**, 145, **1906**.

225. —, Über experimentell erzeugten Rückschlag von Mäusekarzinomen in den histologischen Typus des Adenoms. M. m. W., H. 35, **1907** [*369*].

226. —, Über künstliche Tumormischungen. Z. f. Krebsforschung, **VI**, 251, **1907/8** [*368, 385*].

227. —, Bemerkungen zu dem Aufsatz des Herrn Orth: „Zur Bezeichnung der bösartigen epithelialen Neubildungen." C. f. allg. Pathol., **XIX**, 667, **1908** [*364*].

228. —, Zur Nomenklatur der epithelialen Mäusetumoren. D. m. W., H. 51, **1908** [*364*].

229. —, Über die Empfindlichkeit von Krebsmäusen gegen intraperitoneale Tumorinjektionen. Z. f. I., **III**, 108, **1909** [*375*].

230. —, Über die biologisch wichtigen Ergebnisse der experimentellen Krebsforschung. Z. f. allg. Physiol., **IX**, 63, **1909** [*385*].

231. —, Über einige histologische Ergebnisse der experimentellen Krebsforschung. Arch. f. mikrosk. Anatomie, **LXXVIII**, 144, **1911** [*369*].

232. —, Über die Immunität bei Doppelimpfungen von Tumoren. Z. f. I., **X**, 103, **1911** [*387*].

233. —, The question of athrepsia. Journ. of exp. Med., **XIV**, 316, **1911** [*391*].

234. —, Über Krebsimmunität. Z. f. Krebsforschung, **XI**, 97, **1911/12** [*387*].

235. —, Über die Natur der Mäusegeschwülste. B. k. W., H. 11, **1912** [*364*].

236. —, Bemerkungen zu dem Aufsatz des Herrn Woglom: Neue Beiträge zur Theorie der Individualität des Krebses. Z. f. I., **XII**, 472, **1912** [*376*].

237. —, Über eine seltene Geschwulst bei der Maus. Arch. f. Dermatologie und Syphilis, **CXIII**, 39, **1912** [*368*].

238. —, Über die Beziehungen der Milz zur aktiven Geschwulstimmunität. Z. f. I., **XVII**, 219, **1913** [*376*].

239. —, Erwiderung auf vorstehende Bemerkungen des Herrn Dr. A. Braunstein. Z. f. I., **XVIII**, 337, **1913** [*377*].

240. —, Beitrag z. Pathologie des Pankreas. Virchows Arch., **CCXII**, 188, **1913**.

241. — (und G. Embden), Über die Natur einiger Zelleinschlüsse in Karzinomen. Z. Hyg., **XLII**, 353, **1903** [*362*].

242. — —, Über die Entstehung Plimmerscher Körperchen aus Kerndegenerationen. Z. f. Krebsforschung, **III**, 579, **1905** [*362*].

243. — (und L. H. Marks), Zur Frage der aktiven Geschwulstimmunität. Z. f. I., **X**, 159, **1911** [*376*].

— (mit P. Ehrlich) s. 153 bis 158.

244. **H. Aronson,** Beiträge zur Kenntnis der zentralen und peripheren Nervenendigungen. I.-D. Berlin **1886** [*52, 79*].

245. —, Über die Wirkungsweise saurer Antifebrin- und Phenacetin-Derivate. D. m. W., H. 47, **1891** [*484*].

246. **M. Ascoli,** Über die Entstehung der eosinophilen Leukocyten. Fol. hämatolog., **I**, 683, **1904** [*63*].

247. **E. F. Bashford,** Über Blutimmunität. Arch. intern. de Pharmacodynamie, **VIII**, 101 (cf. auch **IX**, 451) **1901** [*137, 208*].

248. **H. Bauer,** Über o-Nitrophenylselencyanid und o-Aminoselenophenol. Chem. Ber. **XLVI**, 92, **1913** [*440*].

249. **J. Bauer,** Über die Spezifität der biologischen Eiweißdifferenzierung. Arbeiten aus dem Institut f. exp. Therapie, Frankfurt a. M., H. 3, S. 71, **1907** [*281*].

— (und H. Sachs), s. 563 u. 564.

250. **H. Bechhold,** Ein Kondensationsprodukt von Indoxylsäure und Nitrosoantipyrin. Chem. Ber., **XXXVI**, 4131, **1903** [*432*].

251. —, Die Ausflockung von Suspensionen bzw. Kolloiden und die Bakterienagglutination. Z. f. physikal. Chem., **XLVIII**, 385, **1904** [*101, 276*].

252. —, Die Hemmung der Nylanderschen Zuckerreaktion bei Quecksilber u. Chloroformharn. Z. f. physiol. Chem., **XLVI**, 371, **1905** [*504*].

253. —, Ungelöste Fragen über den Anteil der Kolloidchemie an der Immunitätsforschung. Wien. k. W., H. 25, **1905** [*276*].

254. —, Strukturbildung in Gallerten. Z. f. physikal. Chem., **LII**, 185, **1905** [*276*].

255. —, Kolloidstudien mit der Filtrationsmethode. Z. f. physikal. Chem. **LX**, 257, **1907** [*508*].

256. —, Zur inneren Antisepsis. Z. f. physiol. Chem., **LII**, 77, **1907** [*508*].

257. —, Die elektrische Ladung von Toxin und Antitoxin. M. m. W., H. 39, **1907** [*189*].

258. —, Phagozytosestudien. M. m. W., H. 34, **1908** [*272, 339*].

259. —, Durchlässigkeit von Ultrafiltern. Z. f. physikal. Chem., **LXIV**, 328, **1908** [*276*].

260. —, Halbspezifische chem. Desinfektionsmittel. Z. Hyg., **LXIV**, 113, **1909** [*509*].

261. —, Pulsierende Ultrafiltration. Gedenkbuch van Bemmelen, **1910** [*276*].

—, (und P. Ehrlich), s. 159.

**E. Behring** (und P. Ehrlich), s. 160.

262. **J. Benario,** Über den Einfluß der Milz auf die Immunität. D. m. W., H. 1, **1894** [*205*].

263. —, Über syphilitische Neurorezidive, insbesondere solche nach Quecksilberbehandlung. M. m. W., H. 1, **1911** [*606*].

264. —, Zur Technik der Salvarsaninjektionen. M. m. W., H. 8, **1911**.

265. —, Zur Statistik u. Therapie der Neurorezidive unter Salvarsanbehandlung. M. m. W., H. 14, **1911** [*606*].

266. —, Über Neurorezidive. Z. f. Chemother., Referate, **I**, **1911/12** [*606*].

267. —, Über die Schwankungen im Verlaufe der Nervensyphilis. B. k. W., H. 26, **1911** [*606*].

268. —, Zur Frage der Neurorezidive. Wien. med. W., H. 9, **1912** [*606*].

269. —, Zur Frage der Neurorezidive. Wien. med. W., H. 11, **1912** [*606*].

270. —, Bemerkungen über die Häufigkeit u. Hochgradigkeit der

Neurorezidive nach Salvarsan. M. m. W., H. 40, **1912** [*606*].
271. —, Über die sog. Neurorezidive, deren Ätiologie, Vermeidung u. therapeutische Beeinflussung. D. Z. f. Nervenheilk., **XLIII**, **1912** [*606*].
272. —, Zur Pathologie und Therapie des Diabetes insipidus. M. m. W., H. 32, **1913**.
273. **L. Benda,** Über sekundäre aromatische Arsinsäuren. Chem. Ber., **XLI**, 2367, **1908** [*450*].
274. —, Über o-Aminoarylarsinsäuren. Chem. Ber., **XLII**, 3619, **1909** [*450*].
275. —, Über die p-Nitranilinarsinsäure. Chem. Ber., **XLIV**, 3293, **1911** [*464, 465*].
276. —, Über die p-Phenylendiaminarsinsäure. Chem. Ber., **XLIV**, 3300, **1911** [*464*].
277. —, o-Aminophenylarsinsäure, (o-Arsanilsäure). Chem. Ber., **XLIV**, 3304, **1911** [*465*].
278. —, Über Nitrooxyphenylarsinsäure. Chem. Ber., **XLIV**, 3449, **1911** [*466*].
279. —, Über die 4-amino-3-oxyphenyl-1-arsinsäure und deren Reduktionsprodukte. Chem. Ber., **XLIV**, 3578, **1911** [*472*].
280. —, Über die Nitrierung der Arsanilsäure. Chem. Ber., **XLV**, 53, **1912** [*463*].
281. —, Über das 3,6-Diaminoacridin. Chem. Ber., **XLV**, 1787, **1912** [*442*].
282. — (und A. Bertheim), Über Nitro-oxy-aryl-arsinsäuren. Ch. Ber., **XLIV**, 3445, **1911** [*463*].
283. — (und R. Kahn), Über einige Homologe und Derivate der Arsanilsäure. I. Mitteil. Chem. Ber., **XLI**, 1672, **1908** [*450*].
— (und A. Bertheim), s. 295.
— (und P. Ehrlich), s. 161.
— (und R. Kahn), s. 381.
284. **W. Berghaus,** Über die Beziehung des Antitoxingehaltes des Diphtherieheilserums zu seinem Heilwert. I. Mitteil. C. Bakt., **XLVIII**, 450, **1908** [*244, 310*].
285. —, Bemerkungen zu dem Aufsatz des Herrn Hendrik E. Reeser, „Das Tuberkulin". C. Bakt., **XLVI**, 775, **1908** [*331*].
286. —, Über die Beziehungen des Antitoxingehaltes des Diphtherieserums zu seinem Heilwert. II. Mitteil., C. Bakt., **XLIX**, 281, **1909** [*244, 310*].
287. —, Über die Beziehungen des Antitoxingehaltes des Diphtherieserums zu seinem Heilwert. III. Mitteil. C. Bakt., **L**, 87, **1909** [*244, 310*].
288. **A. Bertheim,** Eine isomere Aminophenylarsinsäure. Chem. Ber., **XLI**, 1655, **1908** [*464*].
289. —, Diazophenylarsinsäure und ihre Umwandlungsprodukte. Chem. Ber., **XLI**, 1853, **1908** [*452*].
290. —, Über halogenierte p-Aminophenylarsinsäuren. Chem. Ber., **XLIII**, 529, **1910** [*462*].
291. —, Derivate des p-Aminophenylarsenoxyds. Chem. Ber., **XLIV**, 1070, **1911** [*455*].
292. —, Nitro- und Amino-Arsanilsäure. Chem. Ber., **XLIV**, 3092, **1911** [*463*].
293. —, Zur Kenntnis methylierter Diaminodioxyarsenobenzole. Chem. Ber., **XLV**, 2130, **1912** [*472*].
294. —, Methylierende Spaltung von Arseno-Verbindungen. Chem. Ber., **XLVII**, 271, **1914** [*457*].
295. — (und L. Benda), Die Konstitution der „isomeren Aminophenylarsinsäure" und der Michaelisschen Nitrophenylarsinsäure. Chem. Ber., **XLIV**, 3297, **1911**.
— (und L. Benda), s. 282.
— (und P. Ehrlich), s. 162 bis 168.

296. **K. Bierbaum,** Die Behandlung bakterieller Infektionen mit Salvarsan. D. m. W., H. 43, **1912** [*105, 330, 577, 599, 619*].

297. —, Der Nachweis von Bestandteilen des Ricinussamens in Futtermitteln mit Hilfe der Komplementablenkungsmethode. Z. f. Infektionskrankh. usw. der Haust., **XII**, 351, **1912** [*207, 281*].

298. — (und K. E. Boehncke), Über das Milzbrand- u. Rotlaufbakterienanaphylatoxin. Z. f. Infektionskrankh. d. Haust., **XII**, 159, **1912** [*106*].

299. — —, Beitrag zur Anaphylatoxinbildung aus Bakterien (Milzbrand u. Rotlauf). Berl. tierärztl. W., H. 19, **1912** [*106, 339*].

300. — —, Ist die Komplementbindungsreaktion mit spezifischem Serum für die Milzbranddiagnose verwertbar? Z. f. Infektionskrankh. d. Haust., **XIV**, 231, **1913** [*282, 331*].
— —, s. 314 u. 315.

301. **A. Böhme,** Die Anwendung der Ehrlichschen Indolreaktion für bakteriologische Zwecke. C. Bakt., **XL**, 129, **1905** [*103, 498*].

302. —, Weiterer Beitrag zur Charakterisierung der Hog-Cholera-(Paratyphus-)gruppe. Z. Hyg., **LII**, 97, **1905** [*101*].

303. —, Zur Technik der bakteriologischen Cholerauntersuchung. D. m. W., H. 40, **1905** [*102*].

304. **K. E. Boehncke,** Ein Universalinjektionsbesteck für Salvarsan. D. militärärztl. W., H. 4, **1911**.

305. —, Beitrag zur Kenntnis der bakteriziden Komplemente. Z. f. I., **XIII**, 240, **1912** [*105, 258*].

306. —, Über die Bedeutung des Salvarsans für die Steigerung des Wertgehalts der Immunsera. B. k. W., H. 25, **1912** [*308, 620*].

307. —, Die Beeinflussung der Intensität der Immunkörperbildung durch das Salvarsan. Z. f. Chemotherapie, **I**, 136, **1912** [*105, 308, 560, 620*].

308. —, Über die Abspaltung des Anaphylatoxins aus Meningokokken. Z. Hyg., **LXXII**, 305, **1912** [*106, 338*].

309. —, Beobachtungen bei der Chemotherapie der Pneumokokkeninfektion. M. m. W., H. 8, **1913** [*105, 326, 577, 620*].

310. —, Über die Wirkung des Kamphers bei bakterieller Infektion. B. k. W., H. 18, **1913** [*105, 577*].

311. —, Zur Methodik des bakteriotropen Reagenzglasversuches. C. Bakt., **LXVII**, 586, **1913** [*105, 272, 328*].

312. —, Über die Haltbarkeit des Diphtherie- und Tetanusserums. Arbeiten aus dem Kgl. Institut f. experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M., H. 5, S. 3, Jena (Fischer) **1913** [*307*].

313. —, Die Wertbemessung des Meningokokkenserums vom prüfungstechnischen Standpunkt. Arbeiten aus dem Kgl. Institut für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M., H. 5, S. 15, Jena (Fischer) **1913** [*282, 328*].

314. — (und K. Bierbaum), Über die Bedeutung der Eiweißsubstanzen des Nährmediums für die Anaphylatoxinabspaltung aus Bakterien. C. Bakt., **LXV**, 504, **1912** [*106, 339*].

315. — —, Über den Einfluß der Kälte und über die Erschöpfung des Antigens bei der Darstellung des Anaphylatoxins. Z. f. I., **XIV**, 130, **1912** [*106, 339*].

316. — (und J. Mouriz-Riesgo), Über den Parallelismus der Pneumokokkenantikörper in vitro und in vivo und ihre Haltbarkeit im Pneumokokkenserum. Arbeiten

aus dem Kgl. Institut für experimentelle Therapie zu Frankfurt a.M., H. 5, 45, Jena (Fischer) **1913** [*326*].

317. — —, Estudio comparativo de varios sueros antineumococcicos (vergleichende Untersuchungen über verschiedene Pneumokokkensera). Boletin del instituto nacional de higiene de Alfonso XIII, **IX**. Jahrg., N. 33, **1913** [*326*].

318. — —, Sobre dos nuevos medios profilacticos contra la difteria (Über zwei neue Mittel zur Diphtherieprophylaxe). Boletin del Instituto nacional de higiene. Madrid, Nr. 35, **1913** [*306*].
— (und K. Bierbaum), s. 298 bis 300.
**G. Bolkowska** (und H. Sachs), s. 565.

319. **H. Bonhoff,** Versuche über die Möglichkeit der Übertragung des Rotzkontagiums mittels Diphtherieheilserums. B. k. W., H. 5, **1897** [*98, 306*].

320. **E. Brand.** Über die praktische Bedeutung der Reduktionsfähigkeit der Milch. M. m. W., H. 17, **1907** [*102*].

321. —, Über das Verhalten der Komplemente bei der Dialyse. B. k. W., H. 34, **1907** [*258*].

322. **M. Brecht,** Die diagnostische Bedeutung der Diazo-Reaktion. J-D. Berlin, **1883** [*495*].
**L. Brieger** (und P. Ehrlich), s. 169—172.

323. **C. H. Browning,** Agglutination u. Komplementschwund. Wien. k. W., H. 15, **1906** [*264*].

324. —, Experimental Chemotherapy in Trypanosome Infections. British Medical Journal, 16. Nov. (559) **1907** [*562*].

325. —, Chemotherapy in trypanosom infections: an experimental study. Journ. of Path. and Bakt., **XII**, 166, **1908** [*562*].

326. —, (und H. Sachs) Über Antiambozeptoren. B. k. W., H. 20 u. 21, **1906** [*280*].

327. **A. Caan,** Therapeutische Versuche mit lokaler Thoriumchloridbehandlung bei Karzinommäusen und Sarkomratten. M. m. W., H. 20, **1913** [*377*].

328. **G. Castelli,** Über Neosalvarsan. Lokalbehandlung der generalisierten Syphilis und generalisierten Framboesie bei Kaninchen. D. m. W., H. 32, **1912** [*561, 587*].

329. —, Über Neosalvarsan. D. m. W., H. 35, **1912** [*561, 587*].

330. —, Chemotherapeut. Versuche über die Wirkung des Cacodyl und Arrhenal bei experimentellen Spirillen- und Trypanosomenerkrankungen. Arch. f. Schiffs- u. Trop.-Hyg. **XVI**, 605, **1912** [*562*].

331. —, Über Neoslavarsan. Z. f. Chemother. **I**, 122, **1912** [*587*].

332. —, Experimentelle und chemotherapeutische Versuche bei Framboesia tropica. Z. f. Chemother. **I**, 167, **1912** [*110, 586*].

333. —, Über Neosalvarsan. Bestimmung der Toxizität und der heilenden Wirkung bei experimentellen Spirochätenkrankheiten. Z. f. Chemother. **I**, 321, **1912** [*561, 587*].
**G. Cohn** (und P. Ehrlich), s. 173.

334. **W. Dönitz,** Über das Antitoxin des Tetanus. D. m. W., H. 27, **1897** [*140, 183, 194, 243, 314*].

335. —, Untersuchungen über die Wertbestimmung d. Tuberkulins. Klin. Jahrb. **VII**, 71, **1898** [*331*].

336. —, Über die Grenzen der Wirksamkeit d. Diphtherieheilserums. Arch. internat. de pharmacodynamie **V**, 425, **1899** [*140, 183, 194, 243, 309*].

337. —, Bericht über die Tätigkeit des Instituts für Serumforschung und Serumprüfung zu Steglitz. Klin. Jahrb. **VII**, 359, **1899**, [*243, 275, 293*].

338. **B. Doinikow,** Über das Verhalten des Nervensystems gesunder Kaninchen zu hohen Salvarsandosen. M. m. W., H. 15, **1913** [*562, 591*].

339. **E. v. Dungern,** Beiträge zur Immunitätslehre. M. m. W., H. 20, **1900** [*149, 162, 250*].

340. —, Beiträge zur Immunitätslehre II. M. m. W., H. 28, **1900** [*163, 287*].

341. —, Beitrag zur Kenntnis der Bindungsverhältnisse bei der Vereinigung von Diphtheriegift und Antiserum. D. m. W., H. 8/9, **1904** [*180, 242, 298*].

342. **G. N. Durdufi,** Beitrag zur physiologischen Methylenblaureaktion. D. m. W., H. 26, **1888** [*80*].

343. **Eckersdorff,** Kasuistische Beiträge zum Vorkommen von Bazillen der Paratyphus- (Hog-Cholera-) Gruppe. Arb. a. d. Kgl. Institut f. exp. Ther. z. Frankfurt a. M., H. 4, S. 61, **1908** [*103*].

**A. Einhorn** (und P. Ehrlich), s. 174.

344. **M. Einhorn,** Über das Verhalten der Lymphocyten zu den weißen Blutkörperchen. I.-D. Berlin, **1884** [*64*].

345. **E. Eiseck,** Beiträge zur Phosphorvergiftung. I.-D. Berlin, **1884** [*487*].

**G. Embden** (und H. Apolant), s. 241 u. 242.

346. **T. Ernst,** Über einen anfangs atypischen Typhusstamm. Arb. a. d. Kgl. Inst. f. exp. Ther. z. Frankfurt a. M., H. 4, S. 57, **1908** [*103*].

347. **B. Fischer,** Die Diazoreaktion bei Pneumonie, Morbillen und Typhus exanthematicus. I.-D. Berlin, **1883** [*495*].

348. **E. Franke,** Über Trypanosomentherapie (Ärztl. Verein i. Frankfurt a. M. mit Diskussionsbemerkungen v. Ehrlich). M. m. W., H. 42, **1905** [*113, 421, 550*].

349. —, Therapeutische Versuche bei Trypanosomenerkrankungen. I.-D. Gießen. Jena (Fischer), **1905** [*113, 421, 550*].

**U. Friedemann** (und M. Neißer), s. 478 u. 479

350. **H. A. Gins,** Zur Technik und Verwendbarkeit des Burrischen Tuscheverfahrens. C. Bakt. **LII**, 620, **1909** [*103*].

351. **E. E. Goldmann,** Die äußere und innere Sekretion des gesunden und kranken Organismus im Lichte der „vitalen Färbung". Teil I. Beitr. z. klin. Chirurgie **LXIV**, 192, **1909** [*55, 547*].

352. **R. Gonder,** Schädigende Einflüsse auf Salvarsan und Arsenophenylglycin. Arch. f. Schiffs- u. Trop.-Hyg. **XVI**, 37, **1912** [*460, 587*].

353. —, Untersuchungen über arzneifeste Mikroorganismen. I. Trypanosoma Lewisi. C. Bakt. **LXI**, 102, **1911** [*121, 576*].

354. —, Untersuchungen über arzneifeste Mikroorganismen II. Können Spironemen (Spirochäten) arsenfest werden? C. Bakt. **LXII**, 168, **1912** [*121, 576, 601*].

355. —, Experimentelle Studien mit Trypanosomen und Spironemen (Spirochäten). Z. f. I. **XV**, 257, **1912** [*118, 566, 599*].

356. —, Experimentelle Übertragung von Orientbeule auf Mäuse. Arch. f. Schiffs- u. Trop.-Hyg. **XVII**, 397, **1913** [*111*].

357. —, Experimentelle Leishmaniosis. 17. Internat. med. Kongreß, 21. Sektion. London **1913** [*111*].

358. —, Die Entwicklung der Spirochäten. Diskussionsbemerkungen. 17. Internat. med. Kongreß, 21. Sektion. London **1913** [*122*].
— (und P. Ehrlich), s. 175.
359. **P. Grosser,** Über den Einfluß des Kochens auf das physikalisch-chemische Verhalten von Frauenmilch, Kuhmilch und Buttermilch. Bioch. Ztsch. **XLVIII**, 427, **1913** [*281*].
**G. Guerrini** (und M. Neißer), s. 480.
360. **H. Guggenheimer,** Studien über das Verhalten hämolytischer Komplemente im salzfreien Medium. Z. f. I. **VIII**, 295, **1910** [*260*].
361. —, Über den Einfluß der Temperatur auf die Wassermannsche Syphilisreaktion. M. m. W., H. 26, **1911** [*261*].
362. —, Über das Verhalten des hämolytischen Komplements und seiner Komponenten gegenüber einigen Einflüssen. Z. f. I. **XI**, 393, **1911** [*259*].
**R. Gulbransen** (und P. Ehrlich), s. 201.
**P. Guttmann** (und P. Ehrlich), s. 176—179.
363. **M. Haaland,** Über Metastasenbildung bei transplantierten Sarkomen der Maus. B. k. W., H. 34, **1906** [*381*].
364. —, Beobachtungen über natürliche Geschwulstresistenz bei Mäusen. B.k.W., H.23, **1907** [*384*].
— (und P. Ehrlich), s. 158.
365. **S. Hata,** Experimentelle Grundlagen der Chemotherapie der Spirillosen. In „Die exper. Chemotherapie der Spirillosen", S. 1. Berlin **1910** [*586*].
366. —, Chemotherapie der Spirillosen. Verhandlungen des 27. Kongresses f. innere Medizin, Wiesbaden 1910. D. m. W., H. 17, S. 822, **1910** [*597*].
— (und P. Ehrlich), s. 180.
367. **R. Hecker,** Beiträge zur Kenntnis der hämolytischen Komplemente. Arb. a. d. Inst. f. exp. Ther. Frankfurt a. M., H. 3, S. 39, **1907** [*258*].
368. **F. Heller,** Über die Serodiagnostik der Syphilis und ihren Wert für die Praxis. I.-D. Gießen, **1908** [*282*].
369. **K. Helly,** Zur Frage der sog. atypischen myeloiden Leukämie. B. k. W., H. 38, **1905** [*68*].
**C. A. Herter** (und P. Ehrlich), s. 181.
370. **F. Höhne,** Über die Verwendung von Urin zur Wassermannschen Syphilisreaktion. B. k. W., H. 32, **1908** [*282*].
371. —, Über das Verhalten des Serums von Scharlachkranken bei der Wassermannschen Reaktion auf Syphilis. B. k. W., H. 38, **1908** [*282*].
372. —, Die Wassermannsche Reaktion und ihre Beeinflussung durch die Therapie. B. k. W., H. 19, **1909** [*282*].
373. **A. C. Hof,** Untersuchungen über die Topik der Alkaliverteilung in pflanzlichen Geweben. Botan. Ctlbl. **LXXXIII**, **1900** [*124*].
374. —, Jodo-Eosin as a test for free alkali in dried-up plant tissues. The Biochemical journal **IV**, 175, **1909** [*124*].
375. —, Färberische Studien an Gefäßbündeln. Ein Beitrag zur Chemie der Elektivfärbungen. Abhdlg. d. Senckenberg. Naturf. Ges. Frankfurt a. M., **XXXI**, 467, **1913** [*125*].
**W. Hübener** (und P. Ehrlich), s. 182.
376. **R. Hunt,** Zur Kenntnis der Toxikologie einiger Nitrile und deren Antidote. Arch. internat. de pharmacodynamie **XII**, 447, **1904** [*421, 491*].

377. —, Über die Toxizität einiger Chinin-Derivate. Arch. internat. de pharmacodynamie **XII**, 497, **1904** [*490*].
378. **J. Husler,** Über die Inaktivierung hämolytischer Komplemente durch Erwärmen. Z. f. I. **XV**, 157, **1912** [*229, 262*].
379. **W. Jonas,** Über die Wirkung verschiedener Serumarten auf das durch Cobragift inaktivierte Komplement. Z. f. I. **XVII**, 539, **1913** [*229, 262*].
380. **R. Kahn,** Primäre Arsine der aromatischen Reihe. Chem.-Ztg., S. 1099, **1912** [*474*].
381. — (und L. Benda). Über einige Homologe und Derivate der Arsanilsäure. II. Mittlg. Chem. Ber. **XLI**, 3859, **1908** [*453*].
— (und L. Benda), s. 283.
382. **P. Karrer,** Zur Kenntnis aromatischer Arsenverbindungen. I. Über p-nitroso-phenylarsinsäure. Chem. Ber. **XLV**, 2065, **1912** [*473*].
383. —, Zur Kenntnis aromatischer Arsenverbindungen. II. Über arsenhaltige Azofarbstoffe. Chem. Ber. **XLV**, 2359, **1912** [*473*].
384. —, Zur Kenntnis aromatischer Arsenverbindungen. III. Über Diazimid-Arylarsinsäuren und einige ihrer Derivate. Chem. Ber. **XLVI**, 249, **1913** [*473*].
385. —, Zur Kenntnis aromatischer Arsenverbindungen. IV. Darstellung der 3-nitro-4-dimethylaminophenylarsinsäure und der 3-nitro-4-oxyphenylarsinsäure. Chem. Ber. **XLVI**, 515, **1913** [*466*].
386. —, Zur Kenntnis aromatischer Arsenverbindungen. V. Über p-Jodoso- und p-Jodo-phenylarsinsäure. Chem. Ber. **XLVII**, 96, **1914** [*474*].
— (und P. Ehrlich), s. 183.
387. **C. Klieneberger,** Über hämophile Bazillen. D. m. W., H. 15, **1905** [*103*].
388. —, Die Typhusdiagnose mittels Widaluntersuchungen in zentralisierten Stationen. Z. f. ärztl. Fortbildung, H. 17, **1905** [*103*].
**N. Kohl-Yakimoff** (und W. L. Yakimoff), s. 606—610.
389. **S. Korschun,** Lab und Antilab. Z. f. physiol. Chemie **XXXVI**, 141, **1902** [*238, 348*].
390. —, Sind im Labmolekül mehrere funktionierende Gruppen anzunehmen? Z. f. physiol. Chem. **XXXVII**, 366, **1903** [*141, 238, 348*].
391. — (und J. Morgenroth), Über die hämolytischen Eigenschaften von Organextrakten. B. k. W., H. 37, **1902** [*226, 262*].
**H. Kossel** (und P. Ehrlich), s. 184 u. 185.
392. **Kranepuhl,** Abszeßbildung durch den Bacillus paratyphosus B. M. m. W., H. 28, **1905** [*103*].
393. **R. Kudicke,** Die Wirkung orthochinoider Substanzen auf Rattentrypanosomen. C. Bakt. **LIX**, 182, **1911** [*118, 572*].
394. —, Beiträge zur Biologie der Trypanosomen. C. Bakt. **LXI**, 113, **1911** [*116, 265, 572*].
395. — (und H. Sachs), Über das biologische Verhalten roher und gekochter Milch (Immunisierungs- und Komplementbindungsversuche). Z. f. I., **XX**. 316, **1913** [*281*].
396. **M. G. Kurlow,** (Nur russisch erschienene Arbeiten, vgl. Ehrlich-Lazarus, Histologie des Blutes, I. Aufl. Wien, 1898). Über das normale Blut bei Meerschweinchen und über die Blutveränderungen bei milzlosen Tieren während des ersten Jahres nach der Entfernung der Milz. Wratsch, Nr. 23/24, **1889** [*64*].
397. —, Über die Blutveränderungen bei milzlosen Meerschweinchen

während des zweiten Jahres nach der Operation. Wratsch, Nr. 19, **1892** [*66*].

398. **P. Kyes,** Über die Wirkungsweise des Cobragifts. B. k. W., H. 38/39, **1902** [*213*].

399. —, Über die Isolierung von Schlangengiftlezithiden. B. k. W., H. 42/43, **1903** [*221*].

400. —, Cobragift und Antitoxin. B. k. W., H. 19, **1904** [*186, 223, 243*].

401. —, Lezithin und Schlangengifte. Z. f. physiol. Chem. **XLI**, 273, **1904** [*215*].

402. —, Über die Lezithide des Schlangengiftes. Bioch. Ztsch. **IV**, 99, **1907** [*221*].

403. —, Bemerkungen über die Lezithidbildung. Bioch. Ztsch. **VIII**, 42, **1908** [*223*].

404. — (und H. Sachs), Zur Kenntnis der Cobragift aktivierenden Substanzen. B. k. W., H. 2—4, **1903** [*214, 261*].

**B. Laquer** (und P. Ehrlich), s. 186.

**A. Lazarus** (und P. Ehrlich), s. 187—189.

**A. Leppmann** (und P. Ehrlich), s. 190.

405. **C. Levaditi,** Un cas de leucémie myélogène. Considérations sur la Mastzellen-leucocytose et sur l'hétérochromasie des granulations leucocytaires. Journ. de Physiol. et Pathol. générale. Mai **1901** [*68*].

406. —, Experimentelle Untersuchungen über die Nekrose der Nierenpapille. Arch. internat. de Pharmacodynamie et de Thérapie **VIII**, 45, **1901** [*136, 490*].

407. —, Experimentelle Untersuchungen über Cumarinvergiftung. Ctlbl. f. allg. Path. **XII**, 241, **1901** [*487*].

408. **A. Lipstein,** Die Komplementablenkung bei bakteriziden Reagenzglasversuchen und ihre Ursache. C. Bakt. **XXXI**, 460, **1902** [*99, 273*].

409. —, Über Immunisierung mit Diphtheriebazillen. D. m. W., H. 46, **1902** [*101*].

410. —, Über die Immunisierung mit Diphtheriebazillen. C. Bakt. **XXXIV**, 421, **1903** [*101*].

411. **A. Loeb,** Über Versuche mit bakteriellem Lab und Trypsin. C. Bakt. **XXXII**, 471, **1902** [*99, 346*].

412. **R. Lubowski,** Über einen atoxischen und avirulenten Diphtheriestamm und über die Agglutination der Diphtheriebazillen. Z. Hyg. **XXXV**, 87, **1900** [*101, 307*].

413. —, Befund von Schweinerotlaufbazillen im Stuhle eines ikterischen Kindes. D. m. W., H. 8, **1901** [*103*].

— (und M. Neißer), s. 481.

414. **Th. Madsen,** Über Tetanolysin. Z. Hyg. **XXXII**, 214, **1899** [*158, 181, 192, 238, 313*].

415. —, Über Heilversuche im Reagenzglas. Z. Hyg. **XXXII**, 239, **1899** [*147, 158, 193, 244, 313*].

416. **W. H. Manwaring,** Über die Lezithinase des Kobragifts. Z. f. I. **VI**, 513, **1910** [*221*].

417. —, Concerning „Cobra-Lecithid". The Johns Hopkins Hospital Bulletin **XXI**, Nr. 234, **1910** [*221*].

418. **M. Margulics,** Verhandlg. der 82. Versammlung Deutscher Naturforscher und Ärzte Königsberg 1910. D. m. W., H. 41, S. 1907, **1910** [*566, 587*].

419. **L. H. Marks,** Über einen für Fische pathogenen Bazillus (Bac. piscicidus haemolyticus). C. Bakt. **XLIV**, 370, **1907** [*103*].

420. —, Fütterung von Mäusen mittels Magensonde. Arb. a. d. Kgl. Inst. f. exp. Ther. zu Frankfurt

a. M., H. 4, S. 29, **1908** [*102, 160, 554*].

421. —, Stomach feeding in mice. Journ. of exp. med. **X**, 204, **1908** [*160*].

422. —, Fütterungsstudien an Mäusen mit einem Bazillus der Paratyphusgruppe. Arb. a. d. Kgl. Inst. f. exp. Ther. z. Frankfurt a. M., H. 4, S. 35, **1908** [*103*].

423. —, Zur Technik der Widalschen Reaktion. Arb. a. d. Kgl. Inst. f. exp. Ther. z. Frankfurt a. M., H. 4, S. 45, **1908** [*101*].

424. —, Über intrastomachale Behandlung trypanosomeninfizierter Mäuse. Z. f. I. **II**, 350, **1909** [*554*].

425. —, Über einen arsenfesten Bakterienstamm. Z. f. I. **VI**, 293, **1910** [*104, 510, 578*].

426. —, Über die Wirkung des Dioxydiamidoarsenobenzols auf die experimentelle Vaccineinfektion des Kaninchens. M. m. W., H. 50, **1910** [*577*].

— (und H. Apolant), s. 243.

— (und M. Neißer), s. 482.

427. **H. T. Marshall,** Studies in Haemolysis with special reference to the properties of the blood and body fluids of human beings. Journal of experimental Medicine **VI**, 347, **1905** [*255*].

428. — (und J. Morgenroth). Über Differenzierung von Komplementen durch ein Partialantikomplement. C. Bakt. **XXXI**, 570, **1902** [*260*].

429. — —, Über Antikomplemente und Antiambozeptoren normaler Sera und pathologischer Exsudate. Z. klin. Med. **XLVII**, 279, **1902** [*260*].

— (und P. Ehrlich), s. 191.

430. **E. Marx,** Experimentelle Untersuchungen über die Beziehungen zwischen dem Gehalt an Immunitätseinheiten und dem schützenden und heilenden Wert der Diphtherieheilsera. Z. Hyg. **XXXVIII**, 372, **1901** [*241, 309*].

431. —, Die Wertbestimmung des Schweinerotlaufserums. Deutsche tierärztl. W., H. 6, **1901** [*322*].

432. —, Über die Tetanusgift neutralisierende Eigenschaft des Gehirns. Z. Hyg. **XL**, 231, **1902** [*142, 235*].

433. —, Mitteilungen aus der prüfungstechnischen Praxis. Kochfestschrift, S. 451. Jena (Fischer) **1903** [*306*].

434. —, Die Bestimmung kleinster Mengen Diphtherieantitoxins. C. Bakt. **XXXVI**, 141, **1904** [*307*].

435. — (und A. Sticker), Untersuchungen über das Epithelioma contagiosum des Geflügels. D. m. W., H. 50, **1902** [*363*].

436. — —, Weitere Untersuchungen über Mitigation des Epithelioma contagiosum des Geflügels. D. m. W., H. 5, **1903** [*363*].

437. **R. Massini,** Ein Fall von Typhus abdominalis mit mangelhafter Agglutininproduktion. Ctlbl. f. inn. Med., Nr. 1, **1906** [*101*].

438. —, Über einen in biologischer Beziehung interessanten Colistamm (Bacterium coli mutabile). Beitrag zur Variation bei Bakterien. Arch. f. Hyg. **LXI**, 250, **1907** [*103*].

439. **O. Meyer,** Über den Glykogengehalt embryonaler und jugendlicher Organe. I.-D. Berlin **1884** [*503*].

440. **L. Michaelis,** Die vitale Färbung, eine Darstellungsmethode der Zellgranula. Arch. f. mikrosk. Anatomie **LV**, 558, **1900** [*53*].

441. **C. Moreschi,** Beschleunigung und Verstärkung der Bakterienagglutination durch Antieiweißsera. C. Bakt. **XLVI**, 456, **1908** [*101, 264*].

442. —, Beziehungen zwischen Ernährung und Tumorwachstum. Z. f. I. **II**, 651, **1909** [*392*].
443. —, Über hemmende und begünstigende Wirkung des Tumorwachstums. Z. f. I. **II**, 675, **1909** [*375, 392*].
444. —, Untersuchungen über die Funktion des Pferdekomplements als Antigen. Z. f. I. **XI**, 275, **1911** [*280*].
445. **J. Morgenroth,** Über den Antikörper des Labenzyms. C. Bakt. **XXVI**, 349, **1899** [*167, 238, 296, 345*].
446. —, Zur Kenntnis der Labenzyme und ihrer Antikörper. C. Bakt. **XXVII**, 721, **1900** [*238, 346*].
447. —, Zur Kenntnis des Tetanus des Frosches. Arch. internat. de Pharmacodynamie. **VII**, 265, **1900** [*141, 169, 243*].
448. —, Über die Erzeugung hämolytischer Ambozeptoren durch Seruminjektion. Ein Beitrag zur Kenntnis der Rezeptoren. M. m. W., H. 25, **1902** [*255*].
449. —, Über die Bindung hämolytischer Ambozeptoren. M. m. W., H. 2, **1903** [*268*].
450. —, Zur Frage des Antimorphinserums. B. k. W., H. 21, **1903** [*137*].
451. —, Über Grubers Kälteeinwand gegen die Ambozeptortheorie. Wien. k. W., H. 43, **1903** [*270*].
452. —, Ambozeptortheorie und Kälteversuch. Wien. k. W., H. 5, **1904** [*270*].
453. —, Komplementablenkung durch hämolytische Ambozeptoren. C. Bakt. **XXXV**, 501, **1904** [*274*].
454. —, Untersuchungen über die Bindung von Diphtherietoxin und Antitoxin, sowie über die Konstitution des Diphtheriegifts. B. k. W., H. 20, **1904** [*161, 186, 240, 310*].
455. —, Untersuchungen über die Bindung von Diphtherietoxin und Antitoxin, zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Konstitution des Diphtheriegiftes. Z. Hyg. **XLVIII**, 177, **1904** [*161, 186, 240, 297*].
456. —, Methodik der Hämolysinuntersuchung. Ges. Arb. zur Immunitätsfrschg. S. 461. Berlin (Hirschwald) **1904** [*161, 246*].
457. — (und H. Sachs), Über die Kompletierbarkeit der Ambozeptoren. B. k. W., H. 27, **1902** [*255*].
458. — —, Über die quantitativen Beziehungen von Ambozeptor, Komplement und Antikomplement. B. k. W., H. 35, **1902** [*266*].
— (und P. Ehrlich), s. 192—200.
— (und S. Korschun), s. 391.
— (und H. T. Marshall), s. 428 u. 429.
**J. Mouriz-Riesgo** (und K. E. Boehncke), s. 316—318.
459. **G. Müller,** Über Agglutinine normaler Tiersera. I.-D. Bern (Darmstadt) **1901** [*100, 255*].
460. **P. Th. Müller,** Geht das Tetanolysin mit den Proteiden des Serums und des Eiklars eine ungiftige Verbindung ein? C. Bakt. **XXXIV**, 567, **1903** [*198*].
461. **E. Nathan,** Über Anaphylatoxinbildung durch Agar. Z. f. I. **XVII**, 478, **1913** [*339*].
462. —, Über Anaphylatoxinbildung durch Stärke. Z. f. I. **XVIII**, 636, **1913** [*339*].
463. —, Über die Wirkung kolloidaler Kieselsäure auf die roten Blutkörperchen. Z. f. I. **XIX**, 216, **1913** [*276*].
— (und H. Sachs), s. 566.
464. **E. Neißer,** Beiträge zur Kenntnis des Glykogens. I.-D. Berlin, **1888** [*503*].
465. **M. Neißer,** Die Bedeutung der Bakteriologie für Diagnose, Pro-

gnose und Therapie. Wien. med. W., 48/49, **1900** [*100, 196*].

466. —, Über die Vielheit der im normalen Serum vorkommenden Antikörper. D. m. W., H. 49, **1900** [*100 196 256*].

467. —, Die Untersuchung auf Diphtheriebazillen in zentralisierten Untersuchungsstationen. Hyg. Rdschau, Nr. 14, **1903** [*102*].

468. —, Über die Symbiose des Influenzabazillus. D. m. W., H. 26, **1903** [*103*].

469. —, Die Methodik des bakteriziden Reagenzglasversuchs. Ges. Arb. z. Immunitätsfschg., S. 493. Berlin (Hirschwald) **1904** [*99, 161, 319*].

470. —, Kritische Bemerkungen zur Arrheniusschen Agglutininverteilungsformel. C. Bakt. **XXXVI** 671, **1904** [*103*].

471. —, Enquete des ärztlichen Vereins über eine Diphtherie-Epidemie April—Mai 1903. B. k. W., H. 11, **1904** [*104*].

472. —, Zur Diagnostik des Diphtheriebazillus. Deutsche Ärztezeitung, H. 1, **1905** [*102*].

473. —, Statistische Unterschiede in der Hinfälligkeit gegenüber einzelnen Krankheiten. Hyg. Rundschau, H. 4, **1906** [*104*].

474. —, Ein Fall von Mutation nach de Vries bei Bakterien und andere Demonstrationen. C. Bakt., Referate, **XXXVIII**, Beiheft S. 98, **1906** [*103*].

475. —, Einiges über angewandte Bakteriologie. Z. Hyg. **LIX** (Flügge-Band), 225, **1908** [*104*].

476. —, Ein Abstich- und Zählapparat für Bakterienkolonien. Arb. a. d. Kgl. Inst. f. exp. Ther. z. Frankfurt a. M., H. 4, S. 51, **1908** [*102*].

477. —, Über zwei Hausapparate zur Ozonisierung von Wasser. Arb. a. d. Kgl. Inst. f. exp. Ther. z. Frankfurt a. M., H. 4, S. 79, **1908** [*104*].

478. — (und U. Friedemann), Studien über Ausflockungserscheinungen. M. m. W., H. 11, **1904** [*99, 276*].

479. ——, Studien über Ausflockungserscheinungen. II. Beziehungen zur Bakterienagglutination. M. m. W., H. 19, **1904** [*99, 276*].

480. — (und G. Guerrini), Über Opsonine und Leukostimulantien. Arb. a. d. Kgl. Inst. f. exp. Ther. z. Frankfurt a. M., H. 4, S. 3, **1908** [*102, 272*].

481. — (und R. Lubowski), Läßt sich durch Einspritzung von agglutinierten Typhusbazillen eine Agglutininreaktion hervorrufen? C. Bakt. **XXX**, 483, **1901** ]*100, 149, 163, 251*].

482. — (und L. H. Marks), Über die größere Lebensgefährdung des weiblichen Geschlechts durch den Keuchhusten. Z. Hyg. **LIX**, 123, **1908** [*104*].

483. — (und H. Sachs), Ein Verfahren zum forensischen Nachweis der Herkunft des Blutes (Ablenkung hämolytischer Komplemente). B. k. W., H. 44, **1905** [*101, 277, 319*].

484. — —, Die forensische Blutdifferenzierung durch antihämolytische Wirkung. II. Mittlg. B. k. W., H. 3, **1906** [*101, 280, 319*].

485. — —, Bemerkungen über die Arbeit von Prof. Uhlenhuth über Komplementablenkung und Bluteiweißdifferenzierung. D. m. W., H. 39, **1906** [*101, 281*].

486. — —, Untersuchungen über das Verfahren von M. Neißer und H. Sachs zur forensischen Unterscheidung von Menschen- und Tierblut. Klin. Jahrb. **XIX**, 28, **1908** [*101, 281*].

487. — (und K. Shiga), Über freie Rezeptoren von Typhus- und

Dysenteriebazillen und über das Dysenterietoxin. D. m. W., H. 4, **1903** [*101, 327*].

488. — (und F. Wechsberg), Über eine neue einfache Methode zur Beobachtung der Schädigung lebender Zellen des Organismus (Bioskopie). M. m. W., H. 37, **1900** [*102*].

489. — —, Über Staphylotoxin. Z. Hyg. **XXXVI**, 299, **1901** [*100, 143, 182, 195, 238*].

490. — —, Über die Wirkungsart bakterizider Sera. M. m. W., H. 18, **1901** [*99, 256, 317*].

491. **O. Neven,** Über die Wirkungsweise der Arzneimittel bei Trypanosomiasis. I.-D. Bern. (Gießen) **1909** [*116, 558*].

492. **C. T. Noeggerath,** Über den diagnostischen Wert der Züchtung menschenpathogener und saprophytischer Staphylokokken auf blut- und serumhaltigen Agarplatten. Char.-Ann. **XXXII**, 93, **1908** [*100*].

493. **L. Omorokow,** Über die Wirkung des Kobragiftes auf die Komplemente. Z. f. I. **X**, 285, **1911** [*229, 262*].
— (und H. Sachs), s. 567.

494. **F. Oppenheimer,** Über gelbe Diazoreaktion. I.-D. Berlin **1885** [*495*].

495. **S. Oppenheimer,** Weiteres zur Schardingerschen Reduktionsprobe. Arb. a. d. Kgl. Inst. f. exp. Ther. z. Frankfurt a. M., H. 4, S. 73, **1908** [*102*].

496. **D. Orudschiew,** Über die Beziehungen der hämolytischen Hammelblutambozeptoren zu den Rezeptoren des Meerschweinchens. (Ein Beitrag zur Kenntnis der Rezeptorengemeinschaft.) Z. f. I. **XVI**, 268, **1913** [*163, 253, 340*].

497. **R. Otto,** Prüfungstechnische Erfahrungen bei der Wertbestimmung des Tuberkulins. Klin. Jahrbuch **XIII**, 137, **1904** [*331*].

498. —, Das Theobald Smithsche Phänomen der Serumüberempfindlichkeit. von Leuthold-Gedenkschrift **I**, 153, **1906** [*334, 354*].

499. —, Zur Frage der Serumüberempfindlichkeit. M. m. W., H. 34, **1907** [*335*].

500. —, Über die Haltbarkeit der Heilsera in der tropischen und subtropischen Zone. Arch. f. Schiffs- u. Trop.-Hyg. **X**, 763, **1907** [*306*].

501. —, Die staatliche Prüfung der Heilsera. Arb. a. d. Kgl. Inst. f. exp. Ther. z. Frankfurt a. M., H. 2, **1906** [*299*].

502. — (und H. Sachs), Über Dissoziationserscheinungen bei der Toxin-Antitoxinverbindung. Z. f. exp. Path. u. Ther. **III**, 19, **1906** [*187, 230, 241, 297*].
**F. Pinkus** (und P. Ehrlich), s. 189.

503. **F. Pröscher,** Fällbarkeit von Farbbasen durch Ammonpersulfat. Chem. Ztg. **XXIV**, 262, **1900** [*440*].

504. —, Über Acetophenonazobilirubin. Z. f. physiol. Chem. **XXIX**, 411, **1900** [*433, 497*].

505. —, Zur Kenntnis der Ehrlichschen Dimethylamidobenzaldehydreaktion. Z. f. physiol. Chem. **XXXI**, 520, **1901** [*434, 498*].

506. —, Über eine neue Synthese der Methylrubazonsäure. Chem. Ber. **XXXV**, 1436, **1906** [*430*].

507. —, Zur Anstellung der Widalschen Reaktion. C. Bakt. **XXXI**, 400, **1902** [*101*].

508. —, Zur Kenntnis des Krötengifts. Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. **I**, 575, **1902** [*210, 238*].

509. **S. v. Prowazek,** Zur Entwicklung der Gregarinen. Arch. f. Protistenkunde **I**, 297, **1902** [*108*].

510. **J. Rehns,** Contribution à l'étude

de l'immunité acquise. Recherches sur l'agglutination du bacille typhique. C. r. Soc. de Biol. **LII**, 1058, **1900** [*149*, *251*].

511. —, L'immunité active et les toxines diphthéritiques surcompensées. C. r. Soc. de Biol. **LIII**, 141, **1901** [*149*[.

512. —, D'une nécrose typique de la papille rénale déterminée par la tétrahydroquinoléine et certains de ses dérivés. Arch. internat. de Pharmacodynamie et de Thérapie **VIII**, 199, **1901** [*491*].

513. —, Contribution à l'étude des muscles privilégiés quant à l'oxygène disponible. Arch. internat. de Pharmacodynamie et de Thérapie **VIII**, 203, **1901** [*136*, *488*].

514. **W. Rickmann,** Beitrag zur biologischen Eiweißdifferenzierung Z. f. Fleisch- u. Milch-Hygiene, 17. Jahrg., Nr. 6, **1907** [*281*].

515. —, Beitrag zur biologischen Eiweißdifferenzierung. Arb. a. d. Kgl. Inst. f. exp. Ther. z. Frankfurt a. M., H. 3, S. 63, **1907** [*281*].

516. **H. Ritz,** Sublimat und Wassermannsche Reaktion. Z. f. I. **VII**, 170, **1910** [*227*, *282*].

517. —, Über Antikörperbildung und Anaphylaxie bei weißen Mäusen. Z. f. I. **IX**, 321, **1911** [*260*, *336*].

518. —, Über die Rolle hypertonischer Salzlösungen bei der Anaphylaxie. Z. f. I. **XII**, 644, **1912** [*338*].

519. —, Über die Wirkung des Kobragiftes auf die Komplemente. III. Mittlg. Zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der hämolytischen Komplemente. Z. f. I. **XIII**, 62, **1912** [*229*, *262*].

520. —, Über die Inaktivierung des Komplementes durch Schütteln. Z. f. I. **XV**, 145, **1912** [*261*].

521. —, Chemotherapeutische Versuche mit „Trypasafrol". B. k. W., H. 30, **1913** [*554*].

522. — (und H. Sachs), Über das Anaphylatoxin. B. k. W., H. 22, **1911** [*106*, *337*].

523. — —, Über Anaphylaxie. C. Bakt., Ref. **L**, Beiheft S. 43, **1911** [*106*, *262*, *337*].

524. — —, Erfahrungen über die Serodiagnostik der Syphilis. D. m. W., H. 43, **1912** [*282*].
— (und J. H. Schultz), s. 578.

525. **W. Roehl,** Über den Wirkungsmechanismus des Atoxyls. B. k. W., H. 11, **1909** [*557*].

526. —, Über Tryparosan. Z. f. I. **I**, 70, **1909** [*554*].

527. —, Heilversuche mit Arsenophenylglycin bei Trypanosomiasis. Z. f. I. **I**, 633, **1909** [*561*].

528. —, Paraminophenylarsenoxyd contra Trypanotoxyl. Z. f. I. **II**, 496, **1909** [*557*].
— (und P. Ehrlich), s. 201.

529. **P. Röthig,** Untersuchungen am Zentralnervensystem von mit Arsacetin behandelten Mäusen (sogenannten künstlichen Tanzmäusen). Frankfurter Zeitschr. f. Pathologie **III**, 267, **1909** [*556*, *591*].

530. **P. Rondoni,** Über den Einfluß der Reaktion auf die Wirkung hämolytischer Sera. Z. f. I. **VII**, 515, **1910** [*268*].

531. —, Beiträge zur hämolytischen Wirkung der Lipoide. Z. f. I. **IX**, 191, **1911** [*226*, *263*].
— (und H. Sachs), s. 568 u. 569.

532. **G. Sacharoff,** Über Injektion von Diphtherieantitoxin bei Tieren, welche mit normalem Pferdeserum vorbehandelt waren. C. Bakt. **XXXIX**, 99, **1905** [*101*].

533. — (und H. Sachs), Über die hämolytische Wirkung der photodynamischen Stoffe. M. m. W., H. 7, **1905** [*264*].

534. **F. Sachs,** Über das Kondensa-

tionsprodukt aus Flavindulin mit Desoxybenzoin als Vertreter einer neuen Farbstoffklasse. Chem. Ber. **XXXI**, 3073, **1898** [*425*].

— (und P. Ehrlich), s. 202—204

535. **H. Sachs,** Immunisierungsversuche mit immunkörperbeladenen Erythrocyten. C. Bakt. **XXX**, 491, **1901** [*149, 163, 251, 341*].

536. —, Über den Austritt des Hämoglobins aus sublimatgehärteten Blutkörperchen. M. m. W., H. 5, **1902** [*227*].

537. —, Zur Kenntnis des Kreuzspinnengifts. Beitrg. z. chem. Physiol. u. Pathol. **II**, 125, **1902** [*142, 210, 238*].

538. —, Gibt es einheitliche Alexinwirkungen? B. k. W., H. 9/10, **1902** [*255*].

539. —, Über Antipepsin. Fortschr. d. M. **XX**, 425, **1902** [*238, 347*].

540. —, Über die Vorgänge bei der Transfusion fremdartigen Blutes. Arch. f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abtlg., S. 494, **1903** [*260*].

541. —, Über Differenzen der Blutbeschaffenheit in verschiedenen Lebensaltern. C. Bakt. **XXXII**, 686, **1903** [*143, 212, 255*].

542. —, Über die Hämolysine des normalen Blutserums. M. m. W., H. 7, **1904** [*255*].

543. —, Über die Konstitution des Tetanolysins. B. k. W., H. 16, **1904** [*182, 199, 231, 242, 313*].

544. —, Über die Bedeutung des Danysz-Dungernschen Kriteriums nebst Bemerkungen über Prototoxoide. C. Bakt. **XXXVII**, 251, **1904** [*182, 199, 229, 242*].

545. —, Über den Standpunkt Bordets in der Toxinfrage. C. Bakt. **XXXVII**, 398, **1904** [*189*].

546. —, Über das Zusammenwirken normaler und immunisatorisch erzeugter Ambozeptoren bei der Hämolyse. D. m. W., H. 18, **1905** [*278*].

547. —, Welche Rolle spielt das Lezithin bei der Sublimathämolyse? Wien. k. W., H. 35, **1905** [*227*].

548. —, Über Komplementoide. C. Bakt. **XL**, 125, **1905** [*257*].

549. —, Über die komplementablenkende Funktion des normalen Serums. C. Bakt. **XL**, 388, **1906** [*278*].

550. —, Über die Beziehung des Kobragiftes zu den roten Blutzellen. M. m. W., H. 9, **1908** [*218, 262*].

551. —, Bemerkung über die „Inaktivierung" von Lipoiden in eiweißhaltigen Lösungen. Wien. k. W., H. 10, **1908** [*214*].

552. —, Diskussionsbemerkungen. X. Kongreß d. Deutsch. Dermat. Ges. Verhdlg., S. 166, **1908** [*282*].

553. —, Des modifications du sérum sanguin par le chauffage. Semaine médicale, 24. Juni, **1908** [*261*].

554. —, Über Komplemente. C. Bakt. I. Abt. Ref. **XLII**, Beiheft, S. 174, **1908** [*258*].

555. —, Zur Frage des Kobralezithids. Z. f. I. **VIII**, 210, **1910** [*225*].

556. —, Über den Einfluß des Cholesterins auf die Verwendbarkeit der Organextrakte zur Wassermannschen Syphilisreaktion. B. k. W., H. 46, **1911** [*282*].

557. —, Diskussionsbemerkungen. Freie Verein. f. Mikrobiol. C. Bakt., I. Abt. Ref. **L**, Beiheft, S. 121, **1911**.

558. —, Über Ausflockung von Mastixemulsionen. Z. f. I. **XIII**, 371, **1912** [*264*].

559. —, Diskussionsbemerkungen über Anaphylaxie. C. Bakt., I. Abt. Ref. **LIV**, Beiheft, S. 178 u. S. 248, **1912** [*338*].

560. — (und K. Altmann), Diskussionsbemerkungen. Ärztl. Verein. Frankfurt a. M. 17. Febr.

1908 u. Berl. med. Ges. B. k. W., H. 10, S. 522, **1908** [*261*].
561. — —, Über die Wirkung des oleinsauren Natrons bei der Wassermannschen Reaktion auf Syphilis. B. k. W., H. 10, **1908** [*226, 261*].
562. — —, Über den Einfluß der Reaktion auf das Zustandekommen der Wassermannschen Komplementbindung bei Syphilis. B. k. W., H. 14, **1908** [*282*].
563. — (und J. Bauer), Über das Zusammenwirken mehrerer Ambozeptoren bei der Hämolyse und ihre Beziehungen zum Komplement. Arb. a. d. Kgl. Inst. f. exp. Ther. z. Frankfurt a. M., H. 3, S. 5, **1907** [*267*].
564. — —, Über die Differenzierung des Eiweißes in Gemischen verschiedener Eiweißarten. Arb. a. d. Kgl. Inst. f. exp. Ther. z. Frankfurt a. M., H. 3, S. 83, **1907** [*281*].
565. — (und G. Bolkowska), Beiträge zur Kenntnis der komplexen Konstitution der Komplemente. Z. f. I. **VII**, 778, **1910** [*259*].
566. — (und E. Nathan), Immunisierungsversuche mit gekochtem Hammelblut nebst Bemerkungen über Antiserumanaphylaxie. Z. f. I. **XIX**, 235, **1913** [*288, 340*].
567. — (und L. Omorokow), Über die Wirkung des Kobragiftes auf die Komplemente. II. Mittlg. Z. f. I. **XI**, 710, **1911** [*229, 262*].
568. — (und P. Rondoni), Beiträge zur Theorie und Praxis der Wassermannschen Syphilisreaktion. I. Mittlg. Über den Einfluß der Extraktverdünnung auf die Reaktion. B. k. W., H. 44, **1908** [*261*].
569. — —, Beiträge zur Theorie und Praxis der Wassermannschen Syphilisreaktion. Über den Ersatz der Organextrakte bei der Reaktion. Z. f. I. **I**, 132, **1908** [*226, 261*].
570. — (und Y. Teruuchi), Die Inaktivierung der Komplemente im salzfreien Medium. B. k. W., H. 16, 17 u. 19, **1907** [*258*].
— (und C. H. Browning), s. 326.
— (und P. Ehrlich), s. 205—210.
— (und R. Kudicke), s. 395.
— (und P. Kyes), s. 404.
— (und J. Morgenroth), s. 457 u. 458.
— (und M. Neißer), s. 483—486.
— (und R. Otto), s. 502.
— (und H. Ritz), s. 522—524.
— (und G. Sacharoff), s. 533.
571. **H. Schloßberger,** Beiträge zur Serodiagnose der Syphilis mittels der Wassermannschen Reaktion. Z. f. I. **XIX**, 115, **1913** [*283*].
**E. Schmitz**, s. 612.
— (und P. Ehrlich), s. 166, 167.
572. **G. Schöne,** Untersuchungen über Karzinomimmunität bei Mäusen. M. m. W., H. 51, **1906** [*374*].
573. —, Weitere Erfahrungen über die Geschwulstimmunität bei Mäusen. Ges. deutsch. Naturf. u. Ärzte., **1907** [*374*].
574. —, Untersuchungen über Geschwulstimmunität bei Mäusen. Verh. d. Deutsch. Ges. f. Chirurg. **1907** [*374, 386*].
575. **Schubert,** Versuche über Wertbemessung des Sobernheim'schen Milzbrandserums. I.-D. Gießen **1903** [*329*].
576. **J. H. Schultz,** Zur Statistik der Mitagglutination von Typhus- und Paratyphus B-Bazillen. D. med. W., H. 13, **1909** [*101*].
577. —, Untersuchungen über die Much-Holzmannsche Psychoreaktion. M. m. W., H. 30, **1909** [*220*].
578. —, (und H. Ritz), Die Thermoresistenz junger u. alter Coli-

bazillen. C. Bakt., **LIV**, 283, **1910** [*103*].
— (und K. Altmann), s. 216.
579. **G. Schwarze,** Über eosinophile Zellen. I.-D. Berlin. **1880** [*43, 59*].
580. **G. Seiffert,** Über den Bordetschen Keuchhustenbazillus. M. m. W., H. 3, **1909** [*101, 282*].
581. —, Studien zur Salmonellagruppe (Paratyphus-B-Gruppe). Z. Hyg., **LXIII**, 273, **1909** [*101*].
582. **K. Shiga,** Weitere Studien über den Dysenteriebazillus. Z. Hyg., **XLI**, 355, **1902** [*99, 141, 327*].
583. —, Über die Priorität der Entdeckung des Ruhrbazillus und der Serumtherapie bei der Dysenterie. D. m. W., H. 7, **1903** [*103*].
584. —, Über aktive Immunisierung von Menschen gegen den Typhusbazillus. B. k. W., H. 4, **1904** [*101, 327*].
585. —, Über die Gewöhnung der Bakterien an Farbstoffe. Z. f. I., **XVIII**, 65, **1913** [*104, 510, 578*].
— (und P. Ehrlich), s. 211.
— (und M. Neißer), s. 487.
586. **E. Signorelli,** Über den Einfluß des Phenols auf die Wassermannsche Syphilisreaktion. Z. f. I., **XIX**, 293, **1913** [*283*].
587. **H. Smidt,** Über die Fähigkeit der Milch, Methylenblau zu reduzieren. Hyg. Rundschau, Nr. 23, **1904** [*102*].
588. —, Zur Charakterisierung der Hog-Choleragruppe. C. Bakt., **XXXVIII**, 24, **1905** [*103*].
589. **H. Spiethoff,** Über Ehrlichs Diazoreaktion. Ein Beitrag zur Chemie des Harns. I.-D. Berlin. **1884** [*495*].
590. **E. Spilling,** Über Blutuntersuchungen bei Leukämie. I.-D. Berlin **1880** [*67, 86*].
591. **A. Sticker,** Transplantables Lymphosarkom des Hundes. Z. f. Krebsforsch., I, 413, **1904** [*362*].
592. —, Erfolgreiche Übertragungen bösartiger Geschwülste bei Tieren. Med. Klinik. H. 24, **1905** [*377*].
593. —, Transplantables Rundzellensarkom des Hundes. Z. f. Krebsforsch., **IV**, 227, **1906** [*377*].
— (und E. Marx), s. 435 u. 436.
594. **St. Szécsi,** Lucidol, Ein neues Fixiermittel. D. m. W., H. 33, **1913** [*41, 60*].
595. —, Eine neue Methode zur Untersuchung des Liquor cerebrospinalis. D. m. W., H. 52, **1913** [*65*].
596. **A. von Szily,** Über den Einfluß der Osmiumsäure auf das Ambozeptorbindungsvermögen der roten Blutzellen. Z. f. I., **III**, 451, **1909** [*163, 253*].
597. —, Über die agglutinationsvermittelnde Funktion des Kreuzspinnengiftes. Z. f. I., **V**, 280, **1910** [*228, 264*].
598. **B. T. Terry,** The advantage for certains experiments in vitro of suspending trypanosomes in serum. Proc. Soc. for exp. Biol. and Med., **IX**, Nr. 3, S. 40, **1912** [*572*].
599. **Y. Teruuchi,** Die Wirkung des Pankreassaftes auf das Hämolysin des Kobragiftes und seine Verbindungen mit dem Antitoxin und Lezithin. Z. f. physiol. Chem., **LI**, 478, **1907** [*231, 242*].
— (und H. Sachs), s. 570.
600. **W. Uhtemann,** Zur Lehre von der Leukämie. I.-D. Berlin. **1887** [*67*].
601. **W. Walter,** Über Kondensationsprodukte aus aromatischen Aldehyden und Malonitril. Chem. Ber., **XXXV**, 1320, **1902** [*435*].
**A. Wassermann** (und P. Ehrlich), s. 185 u. 212.
602. **F. Wechsberg,** Über bakterizide Heilsera. Wien. kl. Rundschau, H. 41, **1901** [*99, 263, 318*].
603. —, Zur Lehre von der natür-

lichen Immunität und über bakterizide Heilsera. Z. Hyg., **XXXIX**, 171, **1902** [*99, 256, 318*]. — (und M. Meißer), s. 488 bis 490.

604. **F. W. Werbitzki,** Über blepharoplastlose Trypanosomen. C. Bakt., **LIII**, 303, **1910** [*117, 441, 573*].

605. **E. Westphal,** Über Mastzellen. I.-D. Berlin **1880** [*42, 58*].

606. **W. L. Yakimoff** (und N. Kohl-Yakimoff), Der Einfluß von Mikroben auf die Wirkung des Salvarsans. M. m. W., H. 49, **1911** [*106, 469, 587, 609*].

607. —, Der Einfluß der Mikroben auf die Wirkung von Salvarsan. II. M. m. W., H. 3, **1912** [*106, 469, 587, 609*].

608. —, Toxoplasma canis (Mello). Arch. f. Protistenkunde, **XXVII**, 196, **1912** [*109*].

609. —, Infection des souris blanches par les cultures de Leishmania infantuum Ch. Nicolle. Bull. Soc. Path. exot., **V**, 218, **1912** [*111*].

610. —, L'infection des animaux de laboratoire par la Leishmania infantum Ch. Nicolle. Bull. de Soc. de Pathol. exothique, **V**, Nr. 6, S. 355, **1912** [*111*].

611. **S. Zaretzki,** Versuche über vitale Färbung des Embryo. Virch. Arch., **CCI**, 25, **1910** [*56*].

Nachtrag.

612. **E. Schmitz,** Versuche über die Haftfestigkeit der Arsensäure am aromatischen Kern. Chem. Ber. **XLVII**, 363, **1914** [*454*].

# Namenregister.

(Die Zahlen bezeichnen die Seiten.)


Abderhalden 349, 486.
Abendroth 622.
Abramow 268.
Achalme 347.
Adickes 9, 361.
Agazzi 560.
Albertini 443.
Albrecht 395, 405.
Almkvist 610.
Alsleben 431.
Alt 522, 523.
Althoff 8, 9 , 361.
Altmann 20, 54.
Altmann, K., 102, 226, 258, 261, 280, 282.
Anderson 332, 335, 354.
Andreew 56, 562.
Apathy 20.
Apolant 361, 364, 366, 368, 369, 372, 375, 376, 380, 381, 385, 387—389, 391, 394, 395.
Appenzeller 435.
Aronson 49, 52, 79, 166, 325, 484, 485.
Arnstein 80.
Arloing 350.
Arrhenius 184—189, 198, 239, 240, 268, 298, 299, 314.
Arthus 333.
Ascoli, A. 329. 330.
Ascoli, M. 63.
Askanazy 385, 398, 406.
Axhausen 298.

Bail 148.
Bang 148, 163, 216, 224, 226, 229, 252.
Banzhaf 310.
Bargellini 426.
Barschall 429—431.
Bashford 137, 207, 348, 374, 376, 383, 389, 391, 395.
Batemann 567.
Bauer, H. 440.
Bauer, J. 267, 271, 274, 281.
Bauer, R. 500, 573.
Baumann 484.
Bayer 447, 479.
Bearn 348.
Béchamp 414, 448, 555, 584.
Becherescu 430.
Bechhold 101, 189, 272, 276, 432, 504, 505, 508.
Beck 496.
Becker 577, 619.
Behring, v., 7, 129, 155, 166, 169, 173, 181, 183, 184, 204, 233, 241, 293, 294, 309, 315, 333, 341.
Beitzke 347.
Belfanti 310.
Belonowski 212.
Benario 205, 530, 602, 606.
Benda 411, 417, 420, 428, 435, 442—446, 450, 452, 463, 465, 466, 472, 473, 554.
Benewolensky 620.
Berger 4.
Berghaus 105, 244, 306, 310, 311, 331.
Bernthsen 419.
Berthelot 26, 37, 38.
Berthold 438.
Bertheim 411, 414, 416, 421, 423, 447, 452, 455, 456, 459, 460, 462—467.

472, 474—476, 520, 555, 559, 584, 585, 593.
Berzelius 447.
Besredka 335, 338, 339.
Bethe 20, 52, 80.
Bettmann 577, 619.
Biedert 97.
Bielschowski 20.
Bierbaum 105, 106, 207, 281, 282, 329, 331, 338, 339, 577, 599, 617.
Biermer 4, 71.
Bindschedler 419.
Bindseil 387.
Binz 552.
Blagodetelew 620.
Böhme 101—103, 498.
Boehncke 105, 106, 258, 272, 282, 293, 304, 306—309, 313, 326—330, 338, 339, 560, 577, 620, 621.
Böniger 436.
Bohac 603.
du Bois-Reymond 135.
Bolkowska 259, 262.
Bondzynski 496.
Bonhoff 98, 306.
Bordet 10, 99, 101, 148, 162, 245, 250, 264—270, 274, 276, 277, 279, 280, 319, 339, 347.
Borrel 383, 385, 388.
Brand 102, 105, 258—260, 262.
Braun 229, 258, 259, 262, 337, 353.
Braus 392.
Brecht 495.
Breinl 448, 555.
Breisinger 618.
Bridré 621.
Brieger 7, 81, 82, 90, 153, 156, 237, 352, 496, 554.
Brimont 567, 572.
Briot 226.
Broden 519, 555.
Browning 264, 271, 280, 556, 565, 566, 575, 579, 585.
Bruck 188, 278, 516, 527.
Bry 429.
Buchheim 477.
Buchner 166, 254, 256.
Bürgi 489.
Buffard 547.
Bunsen 447.
Busck 549.

Caan 347.
Calmette 213, 217, 219, 221, 230, 231.
Camus 161.
Caro 418.
Carpi 226.
Cassella 450, 548, 554.
Castellani 287.
Castelli 110, 561, 562, 586—590, 597 bis 600.
Cattani 205.
Chambrelent 354.
Chauveau 350.
Cherry 146, 231, 242.
Clemens 496, 499.
Clowes 382, 383.
Clunet 389, 397.
Coca 218, 223, 225, 229, 253, 263.
Cohn, G. 423.
Cohn, M. 259.
Cohnheim 5, 20, 62, 357, 396.
Cornevin 350.
Conor 619.
Courmont 141, 169.
Cramer 348, 395.
Craveri 437.
Cruveilhier 310.
Cuénot 108, 389.
Czerny 357.

Dale 576.
Danysz 180, 182, 187, 199, 229, 231, 242, 243, 298.
Darmstädter, L. 11.
Decker 446.
Dehn 474.
Deiters 557.
Delezenne 225, 226, 349.
Denys 146.
Detre 227.
Dieudonné 353.
Dönitz 105, 140, 142, 183, 194, 195, 243, 244, 275, 293, 309, 312, 314, 318, 331.
Döring 256.
Dörr 340.
Dogiel 52, 78, 80, 81.
Doinikow 562, 591.
Dold 387.

Dolgow 496.
Donath 73.
Donati 387.
Dorschprung-Zelizo 621.
Doyon 141.
Dreisdörner 622.
Dreyer 172, 187, 188, 240.
Dschunkowsky 619.
Ducloux 161.
Dumant 446.
Dumas 447.
Dungern, v. 143, 149, 162, 165, 171, 180—182, 218, 225, 242, 250, 251, 259—263, 266, 274, 275, 287, 289, 298, 314, 345, 354, 391.
Durdufi 80.

Eckerdorff 103.
Einhorn, A. 412, 433, 485, 502.
Einhorn, M. 64.
Eiseck 487.
Eisenberg 251, 266.
Eisler, v. 348.
Eitner 603, 604.
Eller 404.
Embden 362, 494.
Enderlen 405.
Engel 69, 75.
Engwer 577, 620.
Ernst 103.
Everding 431.

Famulener 391.
Da Fano 376.
Faust 227.
Favero 618.
Fehleisen 88.
Feinberg 362.
Fellmer 553.
Ferrata 258.
Fibiger 360.
Finger 605.
Fischer, B. 495.
Fischer, E. 138, 168, 234, 344, 426.
Fischer, H. 412, 500.
Flexner 183, 213, 217—219, 229, 256, 384.
Formanek 433, 498.
Forssman 148, 163, 164, 252, 288, 340.
Franke 113, 421, 507, 550, 551, 578, 585.
Frerichs, v. 5, 74, 87, 419, 500, 502.
Friedberger 278, 280, 336—340, 559, 560, 620.
Friedemann, M. 263.
Friedemann, U. 99, 101, 224, 226, 260, 276, 335, 336, 343.
Friedenwald 496.
Fürth 228.

Gabritschewsky 69.
Gaffky 129.
Gans 327.
Gay 257, 264, 274, 354, 387.
Geigy 432.
Gengou 10, 101, 264, 276, 277, 319, 347.
Gerhardt 447, 495.
Gerlach, v. 18.
Gerota 19.
Giemsa 109.
Gierke, v. 382, 384, 389, 397, 398.
Gins 103.
Göbel 216, 229, 406.
Goldmann 19, 55—57, 75, 365, 376, 377, 432, 547.
Golgi 20.
Gonder 111, 118, 121, 122, 387, 469, 566, 572, 573, 576, 591, 595, 600, 601, 618.
Gorjaeff 620.
Gottlieb 496.
Greigh 221.
Grenacher 43.
Grieß 419, 494.
Grignard 439.
Groll 419.
Grosser 281.
Gruber 148, 254—256, 351.
Grünwald 48.
Guerrini 102, 272.
Guggenheimer 259, 261, 262, 282.
Gulbransen 113, 580, 585.
Guttmann 94, 96, 97, 483, 506, 507, 551.

Haaland 368, 371, 381, 384, 389.
Hadwen 552.
Haendel 311, 387.
Hahn 347.
Halberstädter 551, 566, 567.

Hamburger 479.
Hammarsten 346.
Hanau 362.
Hata 416, 461, 571, 583, 586, 597, 619.
Hawthorn 161.
Hayem 327.
Hecht 405.
Heckenroth 567.
Hecker 258—260, 263.
Heidenhain 5, 54.
Heller 282.
Helly 68.
Henrich 428.
Herold 431.
Herter 413, 435—438, 451, 462, 487.
Hertwig 382.
Herxheimer 529, 611, 612.
Heubel 4.
Heyde 404, 405.
Heymans 491.
Hildebrand 345.
Hintze 340.
Hirschfeld 165, 259, 260.
Höchster Farbwerke 454 469, 472, 476.
Hof 124.
van t'Hoff 26.
Hofmann 440, 447.
Höhne 282.
Holzmann 220.
Houdemer 621.
Hübener 341, 353.
Hunt 421, 435, 490—493
Husler 229, 262.

Isabolinsky 619, 622.
Iversen 608.
Iwanow 622.

Jacob 613, 614.
Jacoby 183, 230, 261, 348, 349, 477.
Jaffé 430.
Jarisch 529.
Jenner 48.
Jensen 358, 362, 363, 367, 373, 376, 389.
Jobling 384.
Jochmann 347.
Johann 621.
Jonas 229, 262.
Joseph 329.

Kahn 411, 421, 450, 452, 474, 585.
Kalle 54.
Karrer 411, 466, 473—476.
Kaufmann 443, 510.
Kaya 218, 219, 223, 229.
Kehrmann 425.
Kempf 431.
Kimura 499.
Kitasato 155, 204, 233.
Kitt 354.
Klemperer 354.
Klieneberger 103.
Knorr 430, 432.
Kobert, 200, 201, 202, 205, 206.
Koch 6, 48, 59, 86, 87, 92, 93, 96, 191, 333, 519, 555.
Kohl-Yakimoff 106, 109, 111, 587, 591, 609.
Kolle 304, 318, 328, 336, 618.
Kopke 519, 555.
Korschun 141, 226, 238, 262, 263, 268, 271, 348, 619.
Kossel 7, 155, 237, 289, 293, 401.
Kranepuhl 103.
Kraus 100, 215, 310, 311, 405.
Krause 554, 556.
Kretz 150, 333, 341.
Krönig 479.
Krüger 622.
Kudicke 116—118, 216, 222, 225, 281, 572, 575, 585.
Kurloff 64, 66.
Kyes 186, 187, 213—224, 230, 261.

Laache 71.
Lafranchi 618.
Lamb 218, 221.
Lambert 405.
Landau, Marianne (Tochter v. Ehrlich) 13.
Landmann 325.
Landolt 447.
Landsteiner 73, 162, 165, 228, 252, 349, 389.
Lang 491, 492.
Langerhans 488.

Laquer 481.
Laubenheimer 509, 577, 619.
Laurent 447, 546.
Laveran 118, 550, 551, 555.
Lazarus 47, 48, 65, 67, 75, 124.
Ledebt 225.
Leppmann 81, 483.
Leschly 260.
Leupold 585, 590.
Levaditi 68, 136, 350, 487, 490, 559, 618.
Levin 391, 435.
Levy 217, 577.
Lewin 382.
Leyden, v. 362.
Liebermann 425, 438.
Liebermann, v. 263.
Liefmann 258, 259, 263.
Lipschütz 183.
Lipstein 99, 101, 273.
Loeb 89, 346, 362, 367.
Loesner 464.
London 256.
Lubarsch 406.
Lubowski 100, 101, 103, 149, 163, 251, 307.
Ludwig 477.
Luedecke 222, 223, 225.
Lurà 338.
Lurje 389.
Lustig 354.

Madsen 147, 151, 158, 169, 171—173, 181, 182, 184—189, 192, 193, 195, 196, 198, 238, 241, 244, 294, 298, 299, 313—315.
Mannaberg 552.
Manwaring 221—225, 229.
Marckwald 490.
Margulies 566, 587, 601.
Marinescu 619.
Marks 101—104, 159, 160, 376, 510, 554, 577, 578, 585.
Marras 622.
Marshall 255, 256, 260, 261, 263, 271, 278, 279, 286.
Martin 146, 231, 242.
Marx 105, 142, 233, 235, 241, 244, 306—309, 312, 322, 363.
Massini 101, 103.
Mason 618.
Masuda 560, 620.
Matthes 227.
Matthies 622.
May 48.
Meidner 387.
Meltzer 256.
Mendel 165.
Menzer 325.
Mercier 389.
Merck 325, 326.
Mesnil 404, 546, 547, 567, 572.
Metschnikoff 106, 139, 140, 245, 262, 263, 337, 461, 526.
Meyer, F., 325.
Meyer, H. 188, 484, 489.
Meyer, O. 583.
Meyer, V. 494.
Mießner 207, 621, 622.
Michaelis, 414, 447, 454, 464, 465.
Michaelis, F. 435.
Michaelis, L. 24, 40, 53, 54, 259, 382, 389.
Mikulicz, v. 380.
Minkowski 581.
Minz 229.
Möhlau 425, 426, 428, 432.
Möllendorf, v. 19.
Mokrzecki 690.
Moll 347.
Mopurgo 387, 404.
Morau 362.
Moreschi 101, 256, 257, 264, 277, 280, 281, 375, 384, 392, 394, 406.
Morgenroth 9, 105, 137, 141, 144—146, 149, 161—171, 181, 183, 186, 188, 205, 207, 209, 212, 216, 218, 219, 223, 226, 229—231, 236—238, 242, 243, 246—263, 266—288, 296, 311, 316—318, 341, 345—349, 353, 354, 490, 541, 566, 568, 577.
Mouriz-Riesgo 306, 326.
Moxter 256.
Much 220.
Müller, G. 100, 101, 255.
Müller, P. Th. 102, 191, 198, 256, 287.
Müller, F. 499.
Muir 275.

Murphy 378, 391.
Murray 394, 395.
Myers 183, 348.

Naegeli 75.
Narski 622.
Nathan 276, 288, 339, 340.
Nattan-Larrier 618.
Nawrozky 618.
Neboljubow 622.
Nègre 621.
Neißer, A. 278, 399, 516, 527, 608.
Neißer, E. 256, 503.
Neißer, M. 10, 99—104, 143, 149, 163, 169, 182, 195—199, 238, 251, 256, 263, 264, 272, 273, 275, 277, 278, 281, 317, 319, 327.
Neschkow 620.
Neuberg 224, 226, 347.
Nencki 558.
Nernst 187.
Neubauer 499.
Neufeld 146, 311, 319, 577, 620, 621.
Neumann 66.
Neven 116, 558, 559, 571, 572, 585.
Nicolle 161, 335, 552, 586, 597, 619.
Nissl 486.
Nocht 229.
Noeggerath 100.
Nölting 419.
Noguchi 183, 213, 216—219, 226, 229, 256, 263.
Nuttall 552.

Ogston 88.
Ohta 347.
Omorokow 229, 262.
Oppenheimer, F. 495.
Oppenheimer, S. 102.
Orudschiew 163, 164, 253, 288, 340.
Ostertag 316, 324.
Otto 187, 230, 231, 241, 297, 299, 300, 304, 306, 315, 318, 324, 327, 331, 332, 354.
Overton 484, 489.

Palmer 474.
Paltauf 344.
Panek 496.
Panisset 622.
Pappenheim 499.
Partsch 43.
Pasteur 344, 398.
Patton 618.
Pawlow 347, 349, 486.
Pfeiffer 162, 245, 252, 256, 277, 278, 280, 319.
Pflüger 22, 23, 38.
Philippe 354.
Pick 340.
Pierre-Marie 389, 397.
Pinkus, F. 67, 75.
Pinkus, Hedwig (Ehrlichs Gattin) 12.
Pirquet, v. 333, 334.
Plimmer 362, 562, 567.
Pohl 207.
Poll 382.
Ponfick 73.
Pröscher 101, 210, 217, 238, 412, 430, 433, 440, 497—499.
Prowazek, v. 108, 362.
Pschorr 430.

Ramon y Cajal 20.
Ranson 188, 199, 220.
Ranzi 405.
Raybaud 161.
Recklinghausen, v. 20, 397.
Rehns 136, 149, 251, 487, 488, 491.
Reicher 226, 227.
Reinbach 75.
Reinke 406.
Retzius 80, 81.
Ribbert 390, 396, 397.
Richet 333.
Rickmann 329.
Riess 73.
Rille 605.
Rips 621, 622
Ritz 103, 106, 200, 205, 227, 229, 260—262, 282, 337, 338, 554.
Rodhain 519, 555
Roehl 113, 116, 521, 554, 557, 559, 560, 580, 585.
Röhmer 431.
Römer, P. 143, 207, 325.
Römer, P. H. 307.
Röthig 556, 557, 591.

Rondoni 226, 261, 263, 268, 276, 282.
Roos 620.
Rosenau 332, 335, 354.
Rosenbach 88.
Rosenberg 224.
Rosenthal 567, 581.
Rothemundt 576.
Roudsky 118.
Rous 378.
Roux 166, 309, 343, 344, 461, 526.
Rubner 393.
Ruppel 325.
Russell 376, 387.
Russo 510.

Sacharoff 101, 264.
Sachs, Franz 412, 426, 429—439.
Sachs, Fritz 263.
Sachs, H. 10, 101, 106, 141, 142, 149, 163, 182—187, 199, 209—230, 238, 241, 242, 245, 251, 252, 255—266, 271, 272, 274, 276—282, 288, 297, 313, 315, 319, 337, 341, 347, 392.
Sachs, J. 406.
Sachs, L. 435.
Salomonsen 5.
Sauerbruch 404.
Schaburow 619.
Schäfer 227.
Schardinger 102.
Schaudinn 527.
Schenk 341.
Schering 325.
Schern 572.
Schick 333, 334.
Schiemann 620.
Schloßberger 283.
Schmiedeberg 477.
Schmidt, F. (Ministerialdirektor) 12.
Schmidt, M. B. 397.
Schmidt, P. (Generalstabsarzt d. Marine) 5.
Schönberger 610.
Schönburg 387.
Schöne 374, 375, 379, 386, 388, 389, 397, 398, 404, 405.
Schubert 105, 329.
Schütze 261, 347.
Schultz 101, 102, 103, 220, 282.
Schultze, M. 62.
Schultze, O. 52.
Schumacher 354.
Schuster 619.
Schwarz 348, 474.
Schwarze 43, 59, 64.
Schwerin, Stephanie (Tochter Ehrlichs) 13.
Schwoner 310, 311.
Sclavo 329, 354.
Seiffert 101, 103, 282.
Sellei 227.
Shiga 99, 101, 103, 104, 141, 327, 421, 507, 510, 519, 540, 547, 549, 551, 553, 578, 583, 584.
Sieber 558.
Signorelli 283.
Sittenfield 391.
Skwirsky 259.
Smidt 102, 103.
Smith 132, 332—334.
Sobernheim 329.
Sobotka 603.
Southardt 354.
Speyer, Georg u. Franziska 11, 554.
Spiethoff 495.
Spilling 64, 67, 86.
Spina 93.
Stäubli 354.
Starling 384, 385, 407.
Steffenhagen 387.
Steiner 435.
Steinhardt 310.
Steinhauß 621.
Stenson 81.
Sticker 362, 363, 377, 378, 382, 386, 387, 397, 622.
Stockmann 552.
Stolz 432.
Strauß 256.
Streng 274.
Ströbel 338, 339.
Strubell 560, 621
Studt, v. 12.
Stühmer 621.
Swammerdam 19.
Symons 618.
Szécsi 19, 41, 60, 65.
Szily, v. 163, 228, 253, 264.

Takaki 141, 235.

Tallquist 227.
Tarassévitsch 262, 263.
Terry 572, 585.
Teruuchi 231, 242, 258, 260—262.
Tizzoni 184, 205.
Theiler 552.
Thénard 447.
Thiersch 357.
Thomas 350, 448, 500, 519, 550, 551, 555.
Thomsen 260.
Thum 622.
Todd 165.
Tonin 622.
Torgersen 621, 622.
Trott zu Solz, v. 12.
Trouette 621.
Truffi 595.
Tschistovitsch 287.
Tugendreich 510.
Tyzzer 389.

Uhlenhuth 164, 281, 387—389, 519, 560, 593, 595.
Uhtemann 67.
Ullmann 420, 441, 444.
Unna 20, 22.
Urbantschitsch 611.

Vaillard 353.
Vaughan 354.
van de Velde 191.
Virchow 61, 62, 67, 253, 357.
Vogtherr 428.
Volk 183, 251, 266.
Vries, de 103.

Waldeyer 4, 17, 42, 357.
Walbum 189.
Walter 435.
Warunis 432.
Wassermann, v. 7, 10, 134, 141, 155, 188, 226, 227, 235, 237, 247, 252, 276, 278, 281, 282, 293, 304, 316, 324, 328, 336, 527, 531, 618.
Wechsberg 99, 100, 102, 143, 169, 182, 195—198, 238, 256, 263, 264, 273, 275, 278, 317—319, 327.
Wechselmann 469, 561, 591, 609.
Weidanz 389.
Weidenreich 362.
Weigert, C. 3, 5, 69, 131, 138.
Weigert, W. 435.
Weinberg, v. 3, 420, 547, 548, 553.
Weintraud 608.
Weiß 496, 497.
Welch 5, 578.
Wendelstadt 553.
Werbitzki 117—120, 441, 573, 585.
Werner 321.
Wernicke 353.
Westphal 43, 58, 64, 611.
Wharton-Jones 62.
Wheeler 354.
White 165.
Widal 83.
Willstaetter 222, 411.
Winkler 406.
Witt 32, 53, 435.
Witthacker 431.
Woglom 376.
Wohlgemuth 226.
Wolff 80, 87, 256, 431, 433.
Wolters 108.
Wright 7, 146.
Wunderer 81.

Yakimoff 106, 109, 111, 469, 559, 587, 591, 609.
Yamanouchi 559.

Zaar 438.
Zalkindson 622.
Zaretzki 56, 57.
Ziehl 93, 94.
Zincke 474.
Zumbusch, v. 622.
Zyp 618.

# Kurze alphabetische Inhaltsübersicht.

Die Ziffern bedeuten die Seite, auf der die Besprechung des betreffenden Gebietes beginnt, umfassen aber keineswegs alle Stellen, an denen in anderem Zusammenhang auf die gleiche Frage eingegangen wird[1]).


Alkalinachweis, in pflanzlichen Geweben . . . . . 124
Alkaliverteilung, im Blut . . . . . 74
Alizarinblau, zur Bestimmung der Sauerstoffavidität des Protoplasmas . . . 28
Ambozeptorbindung . . . . . 248
Ambozeptorwirkung, im normalen Serum . . . . . 253
—, Theorie der . . . . . 265
Anämie . . . . . 68
Anaphylaxie . . . . . 332
Antifermente . . . . . 343
Antikörper, cytophile . . . . . 245
Antitoxinwirkung . . . . . 233
Arsenophenylglycin, Chemie des . . . . . 459
Arsenverbindungen, Chemie der . . . . . 447
Arzneifestigkeit . . . . . 116, 562
Athrepsie, Bakteriologie und allgemeine Biologie . . . . . 398
—, Pathologie der Geschwülste . . . . . 379
Atoxyl, Konstitution des . . . . . 448
Bakteriologie . . . . . 83
Bakteriologische Arbeiten aus Ehrlichs Institut . . . . . 98
**Biographie** . . . . . 3
Blut, Histologie und Klinik . . . . . 58
Botanik . . . . . 124
Chemie der Arsenverbindungen . . . . . 447
— (mit Ausschluß der Arsenverbindungen) . . . . . 417
—, physiologische und pathologische . . . . . 494
**Chemie und Biochemie,** einleitender Überblick . . . . . 411
**Chemotherapie,** einleitender Überblick . . . . . 515


---

[1]) Bei der Auswahl war nur der Gesichtspunkt maßgebend, ein rasches Auffinden bestimmter Arbeitsgebiete Ehrlichs in alphabetischer Übersicht zu ermöglichen. Die Worte bezeichnen daher im wesentlichen nur die Überschriften der einzelnen Kapitel, sowie größere Abschnitte. Die Titel der Hauptteile sind durch Fettdruck hervorgehoben.

—, Arsenverbindungen . . . . . 554
—, Farbstoffe . . . . . 546
—, Methodik . . . . . 542
Chemotherapeutische Studien . . . . . 541
Chondrom . . . . . 364
Desinfektion . . . . . 505
Diazoreaktion . . . . . 494
Dimethylamidobenzaldehydreaktion . . . . . 498
Diphtherieserum, Wertbemessung des . . . . . 293
Experimentelle Technik . . . . . 159
Farbenanalytische Studien . . . . . 40
Farbstoffchemie . . . . . 420
Fermente . . . . . 343
Fluoreszenzerscheinungen, am Auge . . . . . 478
**Geschwulstforschung**, einleitender Überblick . . . . . 357
—, Ergebnisse . . . . . 361
—, Methodik . . . . . 363
Geschwulstimmunität . . . . . 373
—, athreptische . . . . . 379
Geschwülste, hämorrhagische . . . . . 364
—, Histologie der . . . . . 362
—, Strahlenwirkung . . . . . 377
—, Virulenzsteigerung . . . . . 366
Giftspektrum . . . . . 178
Glykogennachweis . . . . . 74, 500
Granulafärbung . . . . . 42
Hämoglobinurie, paroxystische . . . . . 72
Hämolysine, des Blutserums . . . . . 245
—, bakteriellen Ursprungs . . . . . 191
—, tierische . . . . . 209
**Histologie und Biologie**, einleitender Überblick . . . . . 17
Immunität, athreptische . . . . . 379
—, Geschwulst- . . . . . 373
**Immunitätsforschung**, einleitender Überblick . . . . . 129
—, Methodik . . . . . 151
Indophenol, zur Bestimmung der Sauerstoffavidität des Protoplasmas . . . . 32
Isolysine . . . . . 283
Komplemente . . . . . 257
Komplementbindung . . . . . 277
Konstitution, Distribution und Wirkung . . . . . 467
Leukämie . . . . . 67
Leukocyten . . . . . 63
Leukocytose, Lymphocytose . . . . . 66
Lezithidbildung . . . . . 219
Lipotropie und Neurotropie . . . . . 484
Nerven, Methylenblaureaktion der . . . . . 51, 77
Neurologie . . . . . 76
Protozoenstudien . . . . . 106
—, allgemeine biologische . . . . . 111

—, morphologische und entwicklungsgeschichtliche . . . . . 108
Protozoenkrankheiten, Übertragung auf Laboratoriumstiere . . . . . 110
Rezeptorenspezifität . . . . . 162, 283
Rückenmark, Ausschaltung der grauen Substanz . . . . . 81
Salvarsan, Chemie des . . . . . 467
—, Experimentelle Grundlagen der — Wirkung . . . . . 583
—, Klinische Erprobung des . . . . . 602
— und Syphilis . . . . . 523
— bei Tierkrankheiten . . . . . 617
Sarkombildung, sekundäre (aus Karzinom) . . . . . 369
Sauerstoffbedürfnis . . . . . 24
—, Theorie des . . . . . 36
Schlangengifte . . . . . 213
Seitenkettentheorie . . . . . 134
Sera, antibakterielle, Wertbemessung der . . . . . 315
—, antitoxische, Wertbemessung der . . . . . 292
Serumfestigkeit . . . . . 112, 549, 578
Serumprüfung . . . . . 292
Strahlenwirkung bei Mäusekarzinom . . . . . 377
Tetanusserum, Wertbemessung des . . . . . 311
Thallin . . . . . 480
Toxine, hämolytische bakteriellen Ursprungs . . . . . 191
—, Konstitution der . . . . . 166
—, pflanzliche . . . . . 200
—, tierische . . . . . 209
—, tierische, spezifische Wirkung . . . . . 210
—, Wertbestimmung der . . . . . 170
Tuberkelbazillenfärbung . . . . . 48, 91
Tuberkulin . . . . . 96
—, Wertbemessung des . . . . . 331
—, Theorie der — Wirkung . . . . . 97, 341
Überempfindlichkeit . . . . . 332
Vererbung, der Immunität . . . . . 350
—, der Serum- und Arzneifestigkeit . . . . . 112, 563
Vitale Färbung . . . . . 50

G. Pätz'sche Buchdr. Lippert & Co. G. m. b. H., Naumburg a. d. S.

...onal Institutes
...esda 14, Ma...

DATE DUE

JUN 9 1980

GAYLORD

PRINTED IN U.S.A.

LIBRARY
NIH
Amazing Research.
Amazing Help.
http://nihlibrary.nih.gov

10 Center Drive
Bethesda, MD 20892-1150
301-496-1080

H LIBRARY
0149 0073

BOUND BY
HM

NIH LIBRARY
3 1496 00202 1114